

県内で初めて発生した *Salmonella* Newport による牛のサルモネラ症とその対策

東部家畜保健衛生所 すずき としなり
鈴木 俊成

1. はじめに

Salmonella Newport (SN) によるサルモネラ症は、牛のサルモネラ症のうち 3%程度を占め、各県で発生が確認されている^{1) 2) 3)}。搾乳牛が発症した場合、激しい水様性下痢や急激な乳量の低下を引き起こす⁴⁾。今回、県内で初めて SN による子牛のサルモネラ症が発生し、対策を実施した結果、清浄化を達成したので、その概要を報告する。

2. 農場概要

発生農場は搾乳牛 300 頭規模のフリーストール搾乳牛舎(成牛舎)と 200m 程度離れた子牛舎から構成されており、従業員は両牛舎で共通で、排泄物は同一の自己所有堆肥施設へ運搬されている。

子牛舎は群飼で、道路を挟んでカーフハッチ(ハッチ)エリアが隣接しており、2 週齢を超えるとハッチエリアから、子牛舎に移され、日齢が進むと奥の牛房へと移動していくシステムとなっている(図 1)。頭数は随時変動し、多いときには 100 頭以上になる。

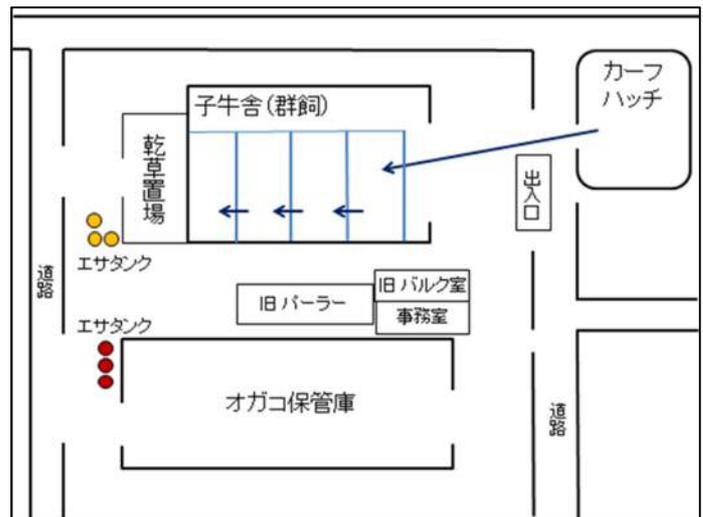


図 1 子牛舎配置図

3. 発生状況

2016 年 12 月下旬から、ハッチエリアの 10 日齢前後の子牛 13 頭が血便や発熱を呈し、2017 年 2 月末までに 5 頭の死亡が確認された。また、子牛舎の一番手前の牛房でも下痢や発熱を呈する牛が散見された。

初発から 1 か月経過後も治まらなかったため、農場を担当する臨床獣医師から依頼があり、病性鑑定を実施した。

4. 病性鑑定

(1) 材料

ハッチエリアの下痢発症牛 5 頭の直腸便及びペア血清と死亡牛 1 頭を用いて、細菌学的検査、寄生虫学的検査及びウイルス学的検査を実施した。死亡牛(剖検牛)については剖

検及び病理組織学的検査も実施した。

(2) 方法

① 細菌学的検査

剖検牛の主要臓器及び腸内容、下痢発症牛の直腸便について、10%羊血液寒天培地及び DHL 寒天培地、ノボビオシン添加 DHL 寒天培地、ヨード加ハーナテトラチオン酸塩培地を用い、定法に従い、分離および同定を行った。

サルモネラ属菌と同定された菌株については、血清型別検査を行い、O 抗原についてはスライド凝集反応で、H 抗原については試験管凝集反応で実施した。

薬剤感受性試験（薬感）は、一濃度ディスク拡散法により、アンピシリン、アモキシシリン（AMPC）、セファゾリン、セフトリオキサム、セフトキシム（CXM）、セフトキシム、セフトキシム、オキシテトラサイクリン、ドキシテトラサイクリン、カナマイシン、ゲンタマイシン、ストレプトマイシン、ST 合剤、コリスチン、ナリジクス酸、エンロフロキサシン（ERFX）、オルビフロキサシン、ノルフロキサシン、クロラムフェニコールの 19 薬剤について実施した。

② 寄生虫学的検査

剖検牛及び下痢発症牛の直腸便について、シヨ糖遠心浮遊法を実施した。

③ ウイルス学的検査

剖検牛及び下痢発症牛の直腸便を用い遺伝子検査を、下痢発症牛のペア血清を用い中和抗体検査を、定法に従い、BVD ウイルス、牛コロナウイルス、牛ロタウイルス（A 群、B 群、C 群）及び牛トロウイルスについて実施した。

④ 病理組織学的検査

剖検牛の主要臓器及び腸管について、定法に従い、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。また、剖検牛の空回腸については、定法に従い、サルモネラの免疫染色を実施した。

(3) 結果

① 剖検所見

脱水が原因と思われる眼球陥没が確認され、腸管では小腸粘膜の充出血や偽膜形成、腸間膜リンパ節の腫脹及び結腸粘膜の出血が認められた（写真 1）。

② 細菌学的検査

剖検牛の小腸及び直腸内容からサルモネラ属菌が分離され、血清型別検査の結果、

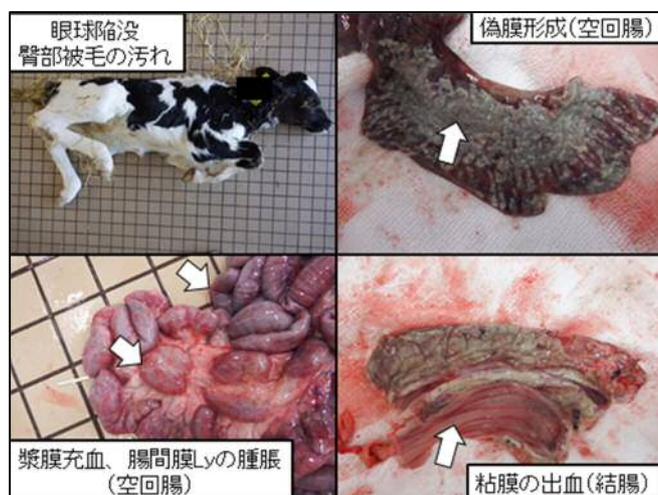


写真 1 剖検所見

SN (08:e, h : 1, 2) と同定された。

薬感の結果、分離株で耐性が認められたのは CXM の 1 薬剤のみで (表 1)、近年 SN で問題となっているような多剤耐性傾向は確認されなかった⁵⁾。

③ 寄生虫学的検査

下痢発症牛 1 頭の直腸便でクリプトスポリジウムのオーシストが認められた。なお、コクシジウムのオーシストは確認されなかった。

④ ウイルス学的検査

BVD ウイルス、牛コロナウイルス、牛ロタウイルス (A 群、B 群、C 群) 及び牛トロウイルスの遺伝子はいずれも検出されず、中和抗体検査でも有意な抗体価の上昇は認められなかった。

⑤ 病理組織学的検査

空回腸にサルモネラに特徴的な偽膜形成および壊死性線維素性腸炎が認められ (写真 2)、免疫染色の結果、病変部に一致して 08 群のサルモネラ抗原が確認された (写真 3)。また、結腸粘膜壊死部へのクリプトスポリジウム (クリプト) の寄生が認められた (写真 4)。

薬剤	判定	薬剤	判定	薬剤	判定
アモキシシリン	S	アンピシリン	I	セフトキシム	R
セフトゾリン	S	ストレプトマイシン	I		
セフトリオキサム	S	カマシリン	I		
セフトジオキサム	S	ゲンタマイシン	I		
オキシテトラサイクリン	S	コリスチン	I		
トモキサクリン	S	ST合剤	I		
エンロフロキサシン	S	ナジクワ酸	I		
オキシメトロキサシン	S				
フルロキサシン	S				
クララムフェニコール	S				

S : 感受性
I : 中間
R : 耐性
赤字 : 治療時使用薬剤

表 1 薬感検査結果

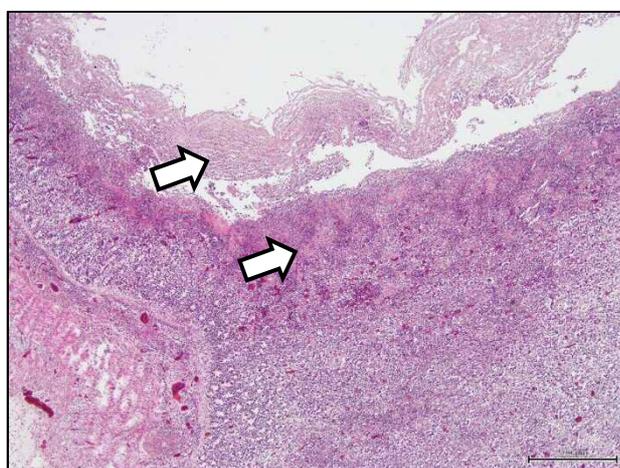


写真 2 偽膜形成、壊死性線維素性腸炎

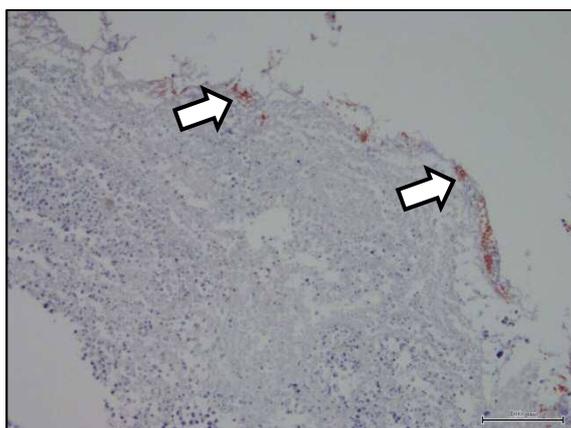


写真 3 免疫染色

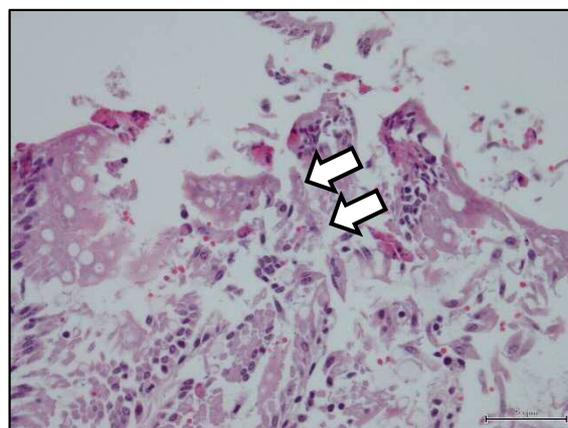


写真 4 クリプトの寄生

(4) 診断

臨床症状、剖検所見、細菌学的検査及び病理組織検査の結果から、一連の発生をサルモ

ネラ症と診断した。

5. 現状確認検査

サルモネラ症の発生を受け、他排菌牛の存在や農場内の汚染が危惧されたため、農場の現状把握を目的に、同居牛検査および環境検査を実施した。

(1) 方法

同居牛は2月下旬に子牛舎115頭、ハッチエリア 13 頭の直腸便を採材し、サルモネラの遅延二次培養検査を実施した。環境検体は3月初旬に子牛舎 22 検体、ハッチエリア 27 検体、堆肥施設 3 検体を対象に、20% スキムミルク液に浸した滅菌ガーゼパッドにて拭き取り採材したものを、リン酸緩衝ペプトン水で 37℃、24 時間培養後、サルモネラの遅延二次培養検査を実施した。なお、搾乳牛に臨床症状は認められなかったが、陰性を確認するため、成牛舎のバークリーナー終末部のプール糞便を用いてサルモネラの遅延二次培養検査を実施した (表 2) ^{6) 7)}。

【子牛舎】		【ハッチエリア】	
採材場所	検体数	採材場所	検体数
壁・床	4	ハッチ/ゲツ(水・エサ)	10
飼槽	2	ハッチ	14
哺乳口ポット	4	通路	1
水槽	3	出入り口	1
敷藁(未使用)	1	野鳥糞便	1
オガコ(未使用)	2		
飼料	3	【成牛舎】	2検体 (2牛舎)
猫糞便	1	【堆肥施設】	3検体
自転車	1		
堆肥運搬車	1		

表 2 環境材料

(2) 結果

ハッチの壁や床、通路、出入り口など、ハッチエリアを中心に SN が検出された。子牛舎では下痢が散見されていた一番手前の牛房の飼槽や農場で使用されていた自転車からも検出され、この付近での汚染も確認された (図 2)。また、堆肥施設の堆肥からも検出された。なお、成牛舎は陰性であった。



図 2 SN 検出場所

6. 指導内容

現状確認検査の結果を受け、畜主や臨床獣医師に対し、以下のような指導を実施した。

(1) 同居牛

陽性牛は有効薬剤 (AMPC、ERFX) による投薬治療を行い、休薬期間終了後に再検査して

陰性を確認後、出荷あるいは移動するよう指導した。

また、陰性牛についてもハッチから子牛舎へ移動の際に、有効薬剤（ERFX）を投与するよう指導した。

(2) 農場、堆肥施設

農場では、検出場所を中心とした消石灰の散布を実施した。ハッチエリアは重度に汚染されていたため、ハッチはクリプト対策も兼ねて熱湯消毒し、その後石灰乳塗布を実施した。出入口には消毒効果を高めるため、パコマと消石灰を混ぜた踏込消毒槽を設置した（写真5）。また、成牛舎や他農場への拡散防止のため、農場専用の長靴や作業着設置を指導した。

農場を担当する動物病院にも協力してもらい、子牛舎やハッチエリアへ立ち入る獣医師を限定した。万が一、同一日に成牛舎と子牛舎の診療がある場合には、必ず成牛舎から子牛舎の順番に診療を行い、作業着や手袋を交換するよう指導した。

堆肥からSNが検出されたことを受け、小まめな切り返しを行い、発酵を促進するよう指導した（写真6）。



写真5 改善後（農場）



写真6 改善後（堆肥施設）

7. 清浄性確認検査

指導内容が適切に実施され、農場内に症状を呈する牛がいなくなったのを受け、清浄性確認検査を実施した。

採材や培養は現状確認検査と同様の方法で実施した。環境材料は現状確認検査で陽性となった箇所を中心に採材し、陰性箇所についてはプールするなど効率的に検査を実施した（表3）。検査間隔は3か月以上とし、2回連続で同居牛検査と環境検査の両

1) 同居牛検査				
実施月 (H29)	子牛舎 (頭)	ハッチエリア (頭)		
3月下旬	40	26		
7月下旬	79	9		

2) 環境検査				
実施月 (H29)	子牛舎 (検体)	ハッチエリア (検体)	成牛舎 (検体)	堆肥施設 (検体)
4月初旬	14	12	2	1
7月下旬	17	17	2	1

表3 清浄性確認検査

方で全検体陰性の場合に清浄化したと判断した。

その結果、2017年7月に2回目の陰性を確認し、清浄化を達成した。なお、子牛舎での発生から清浄化に至るまでの期間、成牛舎や周辺農場での発生は確認されていない。

8. 考察

稟告、病性鑑定及び現状確認検査結果から、今回の事例はSNによるサルモネラ症が主原因と考えられた。また、寄生虫学的検査や病理組織学的検査からクリプトの感染も確認され、急死など重症化個体では複合感染症の可能性が示唆された。

今回の早期清浄化や他農場への拡散防止は、家保、畜主、臨床獣医師の3者が連携し、迅速かつ適切な対応を実現したことで、達成することが出来たと考えている。今後、サルモネラ症が発生した際には、今回得た教訓を基に、まん延防止に努めていく。

<参考文献>

- 1) 秋庭正人：平成28年度戦略的監視・診断体制整備事業（2016）
- 2) 岸本加奈子ら：*Salmonella* Newport が分離された搾乳牛の下痢発症事例, 広島県獣医学雑誌 No. 28（2013）
- 3) 中岡裕司：衛生管理でサルモネラ症から牛群を守る, 臨床獣医, 30(2), 15-20（2012）
- 4) 佐藤静夫：わが国における牛のサルモネラ症の発生状況と対策, 臨床獣医, 24(3), 10-14（2006）
- 5) 野末紫央：搾乳牛から分離された多剤耐性 *Salmonella* Newport, 臨床獣医, 24(3), 23-27（2006）
- 6) 農林水産省：鶏卵のサルモネラ総合対策指針, 7-10（2005）
- 7) 木村宏之ら：第56回家畜保健衛生業績発表集録（北海道）, 17-20（2008）