

04. 酪農家における牛サルモネラ症清浄化対策と簡易検査法の検討

玖珠家畜保健衛生所
○松本航平 佐伯美穂
梅田麻美 木下正徳

【はじめに】

牛サルモネラ症は、農場内で多発すると長期にわたる清浄化対策が必要となり、農家に甚大な損害を与えることから、効率的な対策を講じることが重要である。今回、管内酪農家において *Salmonella* Typhimurium による牛サルモネラ症が発生し、サルモネラ分離検査と抗体検査を併用して清浄化対策に取り組んだので概要を報告する。

【農場概要】

フリーバーン形式で成牛の乳用牛175頭と肉用牛17頭を飼養する酪農家で、農場の見取り図を右に示す（図-1）。

【発生概要】

2015年4月中旬ごろに乾草の変更があった乳用牛（搾乳）群において、泌乳量と採食量の低下、発熱、粘血便を呈して、4月下旬に2頭、5月初旬に1頭が死亡した。5月中旬に同様の症状で衰弱した

1頭について診療獣医師より病性鑑定依頼があり、立ち入り検査を行い、血液と糞便を採材した。この牛は同日夜に死亡した。さらに病性鑑定中に1頭が流産後に死亡した。

【病性鑑定】

ウイルス学的検査には直腸便を用いてBVDV特異遺伝子の検索を実施した。細菌学的検査には直腸便を用いて大腸菌、クロストリジウム、サルモネラについて菌分離を実施した。

ウイルス学的検査の結果はBVDV特異遺伝子陰性であった。細菌学的検査の結果は大腸菌が 5.3×10^8 CFU/g、*Clostridium perfringens* が 6.0×10^7 CFU/g が分離された。サルモネラの分離検査では、サルモネラ免疫血清04群で凝集が認められ、*Salmonella* Typhimurium（以下ST）と診断された。臨床所見と病性鑑定の結果より、STによる牛サルモネラ症と診断された。また、流産後に死亡した母牛についても胎盤と糞便からSTが分離された。

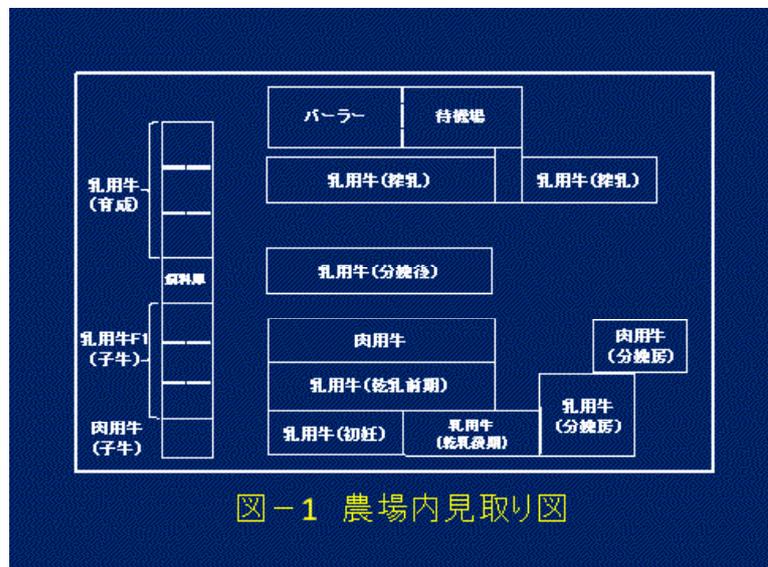


図-1 農場内見取り図

【浸潤状況調査】

病性鑑定の結果を受けて、農場内のST分離検査と抗体検査を実施した。

(1) ST分離検査

発生直後の5月に保菌状況の確認と農場内でのSTの広がりを調査するために飼育牛全頭の糞便検査および環境拭き取り検査を実施した。糞便検査はハーナ・テトラチオン酸塩培地とESサルモネラ寒天培地Ⅱを用いた定法により実施し、環境拭き取り検査ではペプトン緩衝液で培養後、定法で分離した（図-2）。

サルモネラを疑うコロニーについてはサルモネラ免疫血清で凝集反応試験を実施し、04群で陽性のものは病性鑑定部に血清型別検査を依頼した。さらに糞便から分離されたSTについては、ディスク拡散法によりペニシリン・アンピシリン・セファゾリン・カナマイシン・テトラサイクリン・エンロフロキサシンについての感受性試験を実施した。

この結果、分離陽性率は糞便検査では224頭中17頭で7.6%、環境拭き取り検査では87カ所中34カ所で39.1%となった。

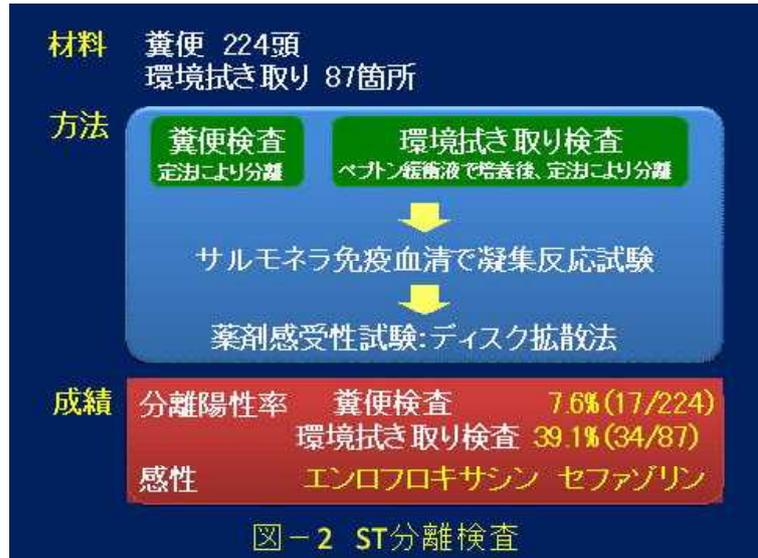
また、薬剤感受性試験の結果、糞便から分離されたSTはエンロフロキサシンとセファゾリンに感性であることが確認された。

STの農場内での分布を示した（図-3）。糞便からの分離は乳用牛や肉用牛の成牛で多く認められた。環境からは、多くの牛舎の水槽や飼槽から分離され、これらを介して感染が拡大している可能性が考えられた。

(2) 抗体検査

1. 材料および方法

2013年5月に採材した保存血清と2015年6月に採材した血清を用いて、間接ELISA法によりサルモネラ04群に対する抗体価を測定した。抗原には当該農場で分離されたSTから抽出したLPSを用い、カットオフ値の設定には2015年5月の浸潤調査時にST分離陽性となった牛で最も低いOD%を参考とした。



2. 結果

抗体陽性率は2013年5月は3.0%で、2015年6月は68.2%であった（図-4）。このことから、2013年時点で農場内にSTが存在していたことと、2015年時点で農場内に多くの潜在的保菌牛が存在していることが推察された。

ST分離検査・抗体検査の結果より、STは農場内に広く存在し、多くの潜在的保菌牛がいると考えられる。

結果 抗体陽性率

平成25年5月採材血清 3.0% (4/133)
平成27年6月採材血清 68.2% (152/223)

平成25年時点でSTは農場内に存在していた多くの潜在的保菌牛が存在している

多くの保菌牛が存在するが、発症はしていない
排菌牛対策を優先する

図-4 抗体検査

【清浄化対策】

浸潤状況調査の結果と、2015年5月以降、牛サルモネラ症の症状を示す個体が認められないことから、排菌牛対策を優先しておこなうことで、清浄化を目指すこととし、以下の対策を実施した（図-5）。

(1) 対策会議

関係機関を参集し、検査結果の共有、対策の協議、簡易検査の導入について会議を行った。

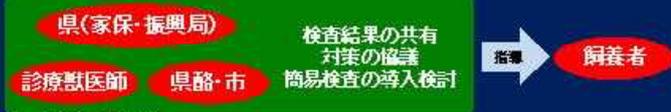
(2) 生体に対する対策

糞便検査の結果、ST分離陽性となった牛は隔離して、薬剤感受性試験の結果とセファゾリンは診療獣医師が治療に用いたが効果が認められなかったことから、エンロフロキサシンを第一選択薬として3日連続投薬を行うとともに、生菌剤を投与した。分離陰性牛はSTに対する抗体陰性陽性に係わらず生菌剤を投与した。

(3) 環境に対する対策

飼養衛生管理の徹底を行い、特に水槽・飼槽などの洗浄・消毒の徹底、牛舎ごとに踏み込み消毒槽を設置し担当者を決めることなどを指導した。(4) 清浄化対策の効果の検証
これらの清浄化対策の効果を検証するため、2ヵ月に1回、全頭で糞便検査を実施、毎月1回環境の拭き取り検査を実施した。

対策会議



生体に対する対策

ST分離陽性牛 隔離・治療、生菌剤の投与、治療後再検査
ST分離陰性牛 生菌剤の投与

環境に対する対策

飼養衛生管理の徹底
・洗浄・消毒の徹底
・牛舎ごとに踏み込み消毒槽の設置

効果の検証

糞便検査(全頭) 2ヵ月に1回実施
環境拭き取り検査 毎月1回実施

図-5 清浄化対策

【検証の結果】

検証結果を右に示す(図-6)。糞便検査は5月の浸潤状況調査では子牛、乳用牛、肉用牛で分離されたが、7月では子牛のみ分離された。環境拭き取り検査では分離率が暫時低下していき、8月には分離されなくなった。11月に検査では子牛のみの糞便検査ではあるが、全頭陰性となり、環境拭き取り検査も全て陰性となった。



【簡易検査法の検討】

死菌凝集液を用いた簡易抗体検査法の導入を検討した。

死菌凝集液は2015年5月に死亡した乳用牛由来のSTを材料として、図-7の方法で作成した。作成した死菌凝集液の有用性の検証に、2015年6月に採材した血清を用いて平板凝集反応を実施した。

検証の結果、70.1%が陽性となり、浸潤状況調査でST分離陽性となった17頭はすべて陽性となり、オンファームでのスクリーニング検査に利用できることが確認できた。そこで、死菌凝集液を診療獣医師に提供し、類似症状を示す患畜が発生した場合に迅速かつ簡便に診断・治療を行うためのスクリーニング法として活用することが可能になった。



【まとめと考察】

2015年4月より、管内の酪農家において、泌乳量と採食量の減少、発熱、粘血便を呈して乳用牛5頭が死亡し、このうちの1頭について病性鑑定を行った結果、STによる牛サルモネラ症と診断された。

抗体検査の結果、2013年時点でSTに対する抗体を保有する個体が存在し、2015年には70%近い個体が抗体を保有していたことから、少なくとも2013年時点でSTが存在し、その後農場内に汚染が拡大したことが示唆された。さらに、ST分離検査では7.6%の牛からしかSTが分離されず、は排菌していない多くの保菌牛が確認されたことから、浸潤状況調査にはサルモネラ分離検査に加えて抗体検査を併用することが必須であると考えられる。

また、死菌凝集液を用いた簡易抗体検査ではST分離牛がすべて陽性を示したことから、オンファームでのスクリーニング検査に用いることで、時間を要する家畜保健衛生所での検査結果を待たずに治療を行うことが可能になる。農場内に潜在的保菌牛が多数存在していることから、再度汚染・発症する可能性があることから、今後も環境と子牛を中心としたモニタリングを続けるとともに、清浄化に向けて取組みを継続したいと考える。