

管内酪農家におけるサルモネラ防除対策

河合浩二、上條明良、塩沢道雄、宮脇 晃
伊那家畜保健衛生所

はじめに

近年、全国的に搾乳牛におけるサルモネラ症の発生が増加しており、成牛の死産、流産、乳量減少、子牛の損耗により、著しい被害をもたらしている¹⁾。一方、サルモネラはヒトの食中毒の原因としても、公衆衛生上最も重視されている。今回、管内の酪農家において、牛のサルモネラ症が発生し、その防除に取り組んだので、概要を報告する。

発生概要

1. 発生農場

発生農場は専業酪農経営で、飼養頭数は成牛が50頭、育成牛が10頭、子牛が3頭の合計63頭であった。搾乳牛はそのほとんどが自家育成牛で、2頭は1996年に北海道から導入したものであった。労働力は3人で、給与飼料は稲ワ、トウモロコシサイレージ、ロールサイレージ、配合、豆腐粕であった。農場は、住居、倉庫、搾乳牛舎、育成舎が図1のように配置されていた。成牛は通路を挟んで25頭ずつ対頭に繋留されていた。子牛は搾乳牛舎内の一角でケージ内に飼養されていた。

2. 経過

97年11月から98年2月にかけて、生まれた子牛8頭すべてが、1週齢から2週齢で粘血便、下痢を呈

し死亡した。98年2月、畜主からの依頼により下痢を呈する1週齢の子牛の病性鑑定を実施した。その結果、糞便からサルモネラO4群が分離された。発生状況などから、過去の死亡畜もサルモネラ症によって死亡したことが疑われた。成牛や育成牛には臨床症状が発現していなかったが、不顕性感染牛と農場内の汚染状況を確認するため、以下のとおり農場の調査を実施した。

材料と方法

1. 細菌検査

飼育牛の糞便と残飼、塵埃などの環境材料を採取した。糞便はR-ナトリウム酸塩基礎培地で37 48時間増菌培養後、さらにR-ナトリウム酸塩基礎培地およびR-ポット培地で37 48時間再増菌し、ホビオン加DHL寒天培地で分離培養を行った。環境材料は燐酸緩衝PBSで37 24時間前培養後、糞便と同様に増菌培養および分離培養を行った。分離菌のうち、TSIおよびLIM培地でサルモネラに該当する生化学性状を示した硫化水素産生菌について、サルモネラ免疫血清による凝集反応を行い、血清型別を行った。

2. 薬剤感受性検査

分離菌15株について、一濃度ディスク法および三濃度法ディスクにより行った。

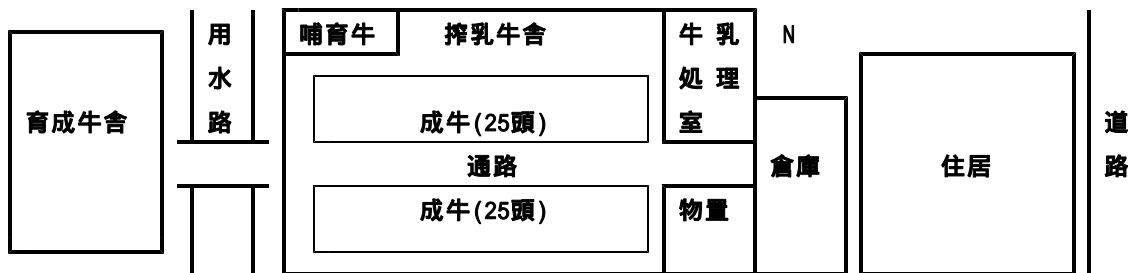


図1 発生農場平面図

3. 分子疫学検査

分離菌15株について、パルスフィールド電気泳動法を実施した。

4. 糞便抗体検査

成牛から血清を採材し、マイクロタイター凝集反応^{4),5),8)}により行った。

汚染状況調査成績

1. 細菌検査

搾乳牛舎では、成乳牛8頭、子牛3頭、牛床スワブ、残飼、塵埃、糞の糞から、また、隣接倉庫では、塵埃および土壌から糞便が分離された。育成牛舎からは分離されなかった。農場内は死亡子牛が飼養されていた場所周辺を含め、広く汚染されていた(表1、図2)。

分離菌は、O抗原は4群、H抗原は1相がi、2相が1、2で、血清型は *Salmonella* Typhimurium(以下、ST)と同定された。

2. 薬剤感受性検査

キノロン酸、インドキサツ、ピコサマイツ、ネチマイツ、コリスに高い感受性を示した(表2)。

3. 分子疫学検査

STと同定された糞便15株のうち2株で2本ないし1本のバンドの違いが見られたが、これ以外は全株同じパターンを示した。

4. 糞便抗体検査

抗体価は8倍未満から1024倍を示した。16倍以下(陰性)は48頭中23頭、32倍以上(陽性)を示したのは25頭であった。うち256倍以上の特に高い抗体価を示したものが2頭見られた。抗体陽性率は52.1%、GM価は30.2倍であった(表3)。

搾乳牛舎内における抗体陽性牛の分布を見ると、死亡畜の飼養されていた場所周辺の牛群の抗体価は128倍から1024倍を示す個体が見られ、他の場所の牛に比べて高い抗体価であった。抗体陽性牛は糞便の分離された場所に一致して多く見られ、分離されなかった場所には抗体陽性牛は見られなかった(図2)。

防除対策

保菌牛の除菌対策として、子牛にはキノロン酸製剤(10g/日、3日間)と生菌剤(B剤)(20g/日、4日間)を投与し、成牛には生菌剤(B剤)(60g/日、4日間)の投与を行った。

環境の汚染対策として、飼養牛を移動し牛床・壁面の汚物除去、水洗と石灰乳の塗布を行った後、牛床への消石灰の散布を週に2回継続して行った。傷んだ飼槽はタイルを張り替えて補修し、敷料にカルシウムを主成分とした衛生資材を添加した。糞便対策としてクマリン系殺鼠剤による駆除を行った。

表1 細菌検査成績(98年2月)

採材場所	検体	検体数	ST分離数
搾乳牛舎	糞便(成乳牛)	50	8
	(子牛)	3	3
	牛床スワブ	3	1
	飼槽の残飼	3	1
	塵埃	5	4
	糞の糞	1	1
	飲用水	1	0
	計	66	18
育成牛舎	糞便	5	0
	牛床スワブ	5	0
	計	10	0
倉庫	土壌	3	1
	塵埃	1	1
	計	4	2

表2 薬剤感受性検査成績

感受性	薬剤名(略号)
+++	OXA BCM CL EN FOS
+++ ~ ++	CER CET CEZ CXM
	GM NA SO
++ ~ +	EM FM SM
+ ~ -	ABPC AMPC OTC TC
	KM OL

OXA:3 濃度ディスク法 / その他:1 濃度ディスク法

表3 糞便抗体検査成績(98年2月)

抗体価	頭数	判定	陽性率	GM価
16倍	23頭	陰性		
32 ~ 128	23	陽性	52.1%	30.2倍
256	2	陽性		

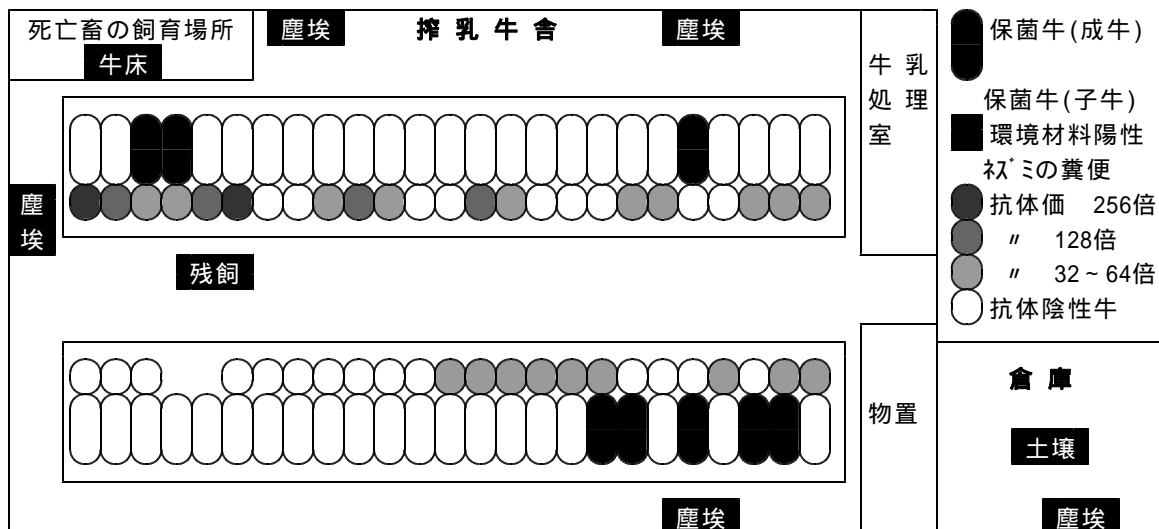


図2 農場の糞便汚染状況（98年2月）

また、子牛の飼育場所を搾乳牛舎外に移動するとともに、その後下痢を呈した子牛には早期に杆菌製剤と生菌剤による治療を行った。

防除対策後の成績

1. 細菌検査

糞便は、3月31日、4月17日ともに全頭ST陰性を

だったが、4月17日の塵埃、残飼からSTが分離された。11月9日の検査では、糞便及び環境材料すべてが陰性となった(表4)。

2. 糞便抗体検査

牛群におけるST抗体陽性牛の割合は52.1%から28.6%に低下、また、GM価も30.2倍から12.6倍に低下した(表5)。

まとめと考察

管内では92年に2件、96年に1件、いずれも酪農家において糞便症の集団発生があった^{6),7)}。また、97年におけるブルセラ病検査残余血清を利用した糞便の抗体検査では、調査した管内の64酪農場のうち25農場(39%)で抗体陽性牛が見られ、糞便が多数の農場に浸潤していることが伺われ⁸⁾同症の発生が懸念されていた。

今回、管内一酪農家で下痢を呈した1週齢の子牛から、病性鑑定によりSTが分離された。稟告により97年11月から98年2月にかけて2週齢以内子牛8頭が同様の症状で死亡していたことがわかり、STの浸潤を疑い汚染調査を実施した。その結果、成牛などに臨床症状は見られなかったが、成牛8頭、子牛3頭が保菌、環境材料及び糞便の糞からSTが分離され、牛舎は広い範囲で汚染されていることが判明した。

防除対策は保菌牛の有効薬剤と生菌剤による

表4 防除対策後の細菌検査成績

検体	98.2.23	糞便分離数(検体数)		
		3.31	4.17	11.9
糞便(成牛)	8(50)	0(50)	0(50)	0(50)
(育成牛)	0(5)	0(5)		
(子牛)	3(3)		0(5)	
飼槽の残飼	1(3)		4(4)	0(14)
塵埃	5(6)		4(4)	0(7)
その他	3(13)	0(1)		
計	20(80)	0(55)	8(58)	0(77)

表5 防除対策後の糞便抗体検査成績

項目	98.2.23	3.31	5.25	11.9
検体数(件)	48	49	49	49
陽性率(%)	52.1	53.1	44.9	28.6
GM価(倍)	30.2	27.8	22.2	12.6

除菌、消石灰による環境の消毒、殺鼠剤によるネミの駆除を基本に実施した。対策開始後、STは飼育牛から分離されなかったが、4月に塵埃、残飼から分離された。これは、塵埃が溜まりやすい場所は消毒薬が行き渡りにくく、また、傷んだ飼槽では清掃、消毒が効果的に実施できなかったためと思われる。そこで、畜舎の隅々まで消毒を徹底するとともに、飼槽の補修を行った。11月の検査では環境材料も陰性となった。本例では、特に新しい対策法を取り入れず、従来カモネギ対策として推奨されている方法に従った。基本的な対策を実施することで、カモネギの清浄化は達成可能と思われる。

カモネギ保菌牛の治療法について、生菌製剤投与と抗生物質投与に有意差が認められず、生菌剤で効果があると報告されている^{2),3)}が、今回の事例からも保菌牛に対して生菌剤の4日間の投与で排菌が認められなくなったことから、保菌牛に対する生菌剤投与は有効であると考えられた。

原因菌の侵入経路は特定できなかったが、牛舎内でネミの糞からカモネギが分離されたことから、媒介、感染源になる可能性が高く、衛生動物の駆除は、カモネギの清浄化に重要であると思われる。

分離されたSTは、パルスフィールド電気泳動法の結果、2つの株で1本ないし2本のバンドの違いが見られたが、同じ場所からの分離株であることから、疫学的に同一株と考えられた⁹⁾。

抗体検査成績を検討したところ、各個体のST抗体価は菌の分離場所に一致して高い傾向にあり、中でも発生場所周辺が特に高かった。また、抗体陽性牛の分布の仕方などから、菌のまん延は発生場所から牛の並びに沿って広がっていったことも伺われた。対策後、牛群のST抗体GM価、陽性率ともに次第に減少した。管内酪農家のカモネギ抗体検査の結果、集団発生した農場では牛群の抗体価は比較的長期間高く維持されたが⁸⁾、今回のように成乳牛が発症にいたらない程度の浸潤では、牛群の抗体価は、保菌状況とほぼ一致して推移すると考えられた。藏菌¹⁰⁾は、マイクロタイター凝集反応による抗体陽性牛の糞便からカモネギ属菌を分離し、保菌牛を摘発した。以上より、抗体検査は各農家の清浄度のモニタリングとともに保菌牛の摘発に利用が可能であると思われる。

今後は、ブルセラ検査の残余血清等を活用したカモネギ汚染農場のモニタリング検査の体制を検討し、広く浸潤しつつあることが懸念されるカモネギの清浄化を進める必要があると思われる。また、今回の検査から、大量の検査時の実験室内の汚染等による事故防止のために、大型のクリーンベンチの設置等、検査施設の充実が望まれた。

稿を終わるにあたり、血清型別、分子疫学検査ならびにご指導をいただいた松本家畜保健衛生所病性鑑定室のみなさまに深謝いたします。

[参考文献]

- 1) 佐藤静夫: しゃくなげ会報51 21-24(1995)
- 2) 古野尚志ら: JVM 49 457-461(1996)
- 3) 桑本 亮ら: 畜産の研究51 61-66(1997)
- 4) 中野良宜: 家畜衛生研修会抄録185(1996)
- 5) 中岡祐司ら: 北海道細菌学会研修会抄録(1997)
- 6) 小嶋義登ら: 長野県畜産技術研究発表集37 69-73(1993)
- 7) 塩入 哲ら: 長野県畜産技術研究発表集41 44-47(1997)
- 8) 河合浩二ら: 長野県畜産技術研究発表集42 14-17(1997)
- 9) F.C.Tenoverら: Journal of Clinical Microbiology. Sept 2233-2239(1995)
- 10) 藏菌光輝ら: 鹿児島県家畜保健衛生業績発表会抄録(1998)