

迅速なフィードバックと対策で清浄化を達成した *Salmonella* Dublin による牛サルモネラ症発生事例

下越家畜保健衛生所

増門宙 中村正明 彌榮麻衣子 町田栄里子
市川雄紀 木村仁徳 會田恒彦 後藤靖行

はじめに

牛サルモネラ症はサルモネラ属菌によって引き起こされる感染症であり、腸炎や敗血症などを引き起こす[1]。サルモネラ属菌は非常に多様な血清型が存在する。その中でも *Salmonella* Typhimurium、*S. Dublin*、*S. Enteritidis* による牛サルモネラ症は特に症状が重篤であり、経済的被害が大きいため、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されている。本報告では、管内酪農場で発生した *S. Dublin* (SD) による牛サルモネラ症について、増菌培地を用いた遺伝子検出法による迅速なフィードバックを実現し、SD の早期清浄化を達成した事例について報告する。

発生概要

当該農場は、飼養頭数 50 頭規模の対尻式タイストールの酪農場である。令和 6 年 11 月、外部農場から導入した子牛 1 頭が下痢、起立困難、被毛粗剛を呈し、その後、まもなく飼養されている子牛 7 頭すべてが同様の症状を呈した。令和 6 年 1 月 20 日に前述の子牛と同じ区画で飼養していた子牛が死亡し、1 月 22 日に病性鑑定の依頼を受けた。死亡後、時間が経過していたため解剖検査は実施しなかった。代わりに 1 月 18 日に別の検査のために採取していた糞便の細菌学的検査を実施した。分離培養により SD が検出され、泥状便、被毛粗剛、眼結膜充血、振戦などの臨床症状が認められていたことから、総合的に判断し、SD による牛サルモネラ症と診断した。

材料および方法

個体検査には糞便および EDTA 添加静脈血を、子牛専用長靴を含む環境検査には滅菌 PBS を染み込ませたガーゼ拭き取り検体を用いた。血液はブレインハートインフュージョン (BHI) 培地、糞便はテトラチオネート (TT) 培地、環境拭き取り検体は緩衝ペプトン水でそれぞれ増菌培養を行い、DHL 寒天培地および ES サルモネラ培地 II で分離培養を実施した。サルモネラ属菌を疑うコロニーにはグラム染色や

生化学試験を行い、サルモネラ属菌と同定された場合は薬剤感受性試験を実施した。

分離培養で陰性の場合、遅延二次増菌培養を行い、培養液を再接種して追加培養した。また、増菌培地から DNA を抽出し、real-time PCR 法で *Salmonella* 属菌および SD 特異遺伝子を検出した[2]。(図 1)

衛生対策

SD の農場内浸潤状況調査のため、令和 6 年 1 月 26 日に全飼養牛の血液、糞便と環境拭き取り検体の採取を行った。また、発症予防のため全飼養牛に牛サルモネラ症のワクチン接種を行った。SD 陽性牛は薬剤感受性試験の結果に基づき抗菌薬を投与し、陰性牛から隔離した。SD 陽性環境では畜主が消石灰を散布し消毒を実施した。その後、清浄化達成まで 2~3 週間に 1 度、飼養牛および環境のモニタリング、SD 検査を継続し、4 月 8 日に清掃消毒の具体的方法（消毒薬の選択、敷料、糞便の除去、洗浄、風乾、消毒液の噴霧）について説明を行い、清掃及び次亜塩素酸ナトリウムと消石灰の混合水溶液による消毒を実施した。

出荷する子牛に際しては 2~3 週の間隔をあけて 2 度の陰性を確認後移動した。

なお、当該農場では、子牛飼養エリアにおいて、専用長靴と専用衣服を着用しており、成牛と子牛で区分管理が実施されていた。

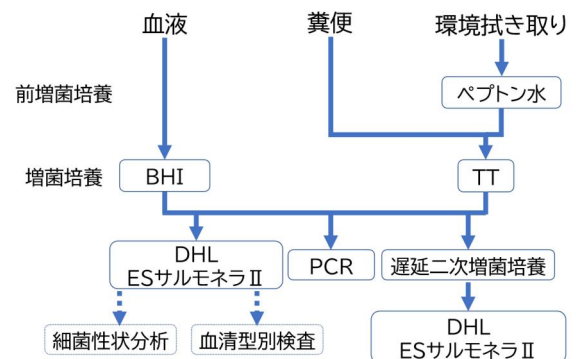


図 1 検査法を示した略図

結果

本事例では、遅延二次増菌培養法に加え、増菌培地の遺伝子検出法を併用した。遅延二次増菌培養法では結果が得られるまで通常 12～14 日程度の時間を有するが、本事例では、結果のフィードバックは 10 日以上早く、最短で採材後 1～2 日で農場および臨床獣医師へ伝達した。

1 月 26 日の農場内浸潤状況調査の結果、子牛 1 頭の糞便、他の 1 頭の血液から通常の分離培養により SD が分離された。一方別の子牛の 1 頭の糞便からは通常の分離培養で SD は分離されなかったが、増菌培地の遺伝子検出法及び遅延二次増菌培養法により SD が検出された(図 2 A)。

浸潤状況調査の結果は畜主および臨床獣医師と情報共有し、対策を検討した。

3 月 5 日に実施した子牛エリアモニタリングでは子牛 1 頭の糞便、子牛飼養区画の床 1 か所、飲水バケツ 6 か所のプール 1 検体から通常の分離培養で SD が検出された(図 2 B)。3 月 25 日に実施した 2 回目のモニタリングでは、子牛は全頭 SD 陰性であった一方で、子牛飼養区画の床 2 か所および飲水バケツプール 3 か所から通常の分離培養で SD が検出された(図 2 C)。なお、調査期間中、出生や出荷、移動などに伴い、子牛は入れ替わっている。

4 月 8 日に清掃・消毒の具体的指導を実施し、4 月 18 日に実施した 3 回目の子牛エリアモニタリングではすべての飼養牛および環境から SD は検出されなかった。6 月 27 日に全畜舎を対象とした浸潤状況調査を実施した結果、すべての飼養牛およびすべての環境から SD が検出されなくなり、2 度の陰性が確認できた。

本事例ではすべての飼養牛及び環境拭き取り検体について 2 週間隔で 2 回連続の陰性が確認されたことを基準に、清浄化達成と判断した。

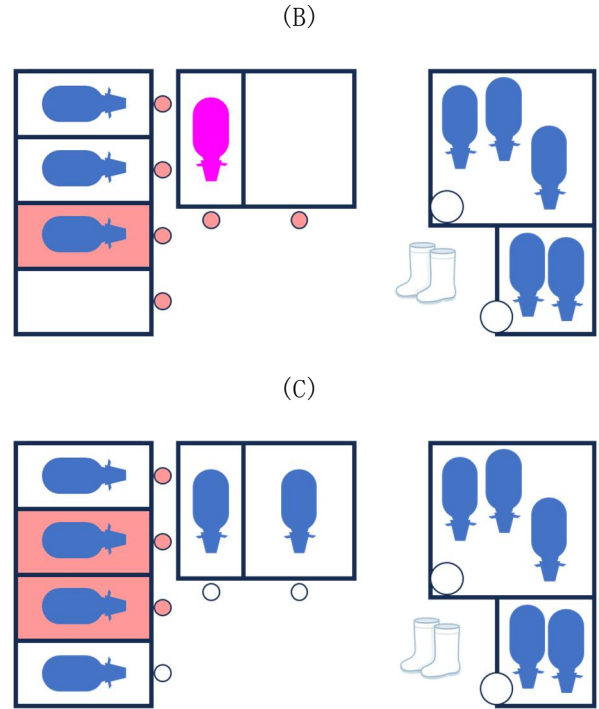
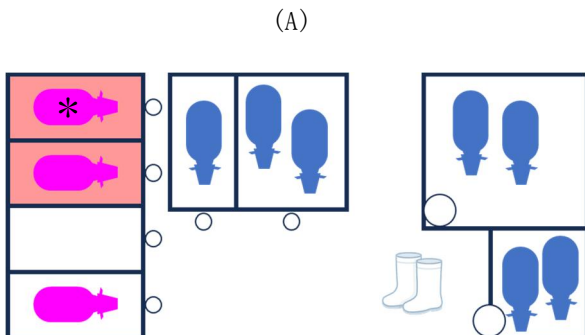


図 2 農場内子牛エリアの模式図

四角は子牛飼養区画を示し、丸は飲水バケツを示す。赤い箇所は SD が検出された環境を示し、ピンクの牛の模式図は SD が検出された牛を示す。(A) 1 月 26 日の農場内浸潤状況調査の結果。* の個体は遅延二次増菌培養及び増菌培地の遺伝子検出法で SD が検出された(B) 3 月 5 日の子牛エリアモニタリングの結果(C) 3 月 25 日の子牛エリアモニタリングの結果

考察

1. SD の検査方法と迅速なフィードバックの重要性

SD は *S. Typhimurium* と異なり、糞便中の排菌量が少なく、肺炎や関節炎などの全身症状を呈することが多い [3]。そのため、高感度な検査が必要であり、本事例では佐藤らの方法 [2] を用いた。

増菌培地の遺伝子検出法は、通常の分離培養よりも高感度 [4] かつ迅速であり、本事例では最短 1～2 日で結果を得ることができた。従来法より 10 日以上短縮され、早期の治療、隔離、消毒に貢献した。

2. 畜舎の清掃消毒における課題と効果的な実施法

消毒薬の効果は、有機物の除去や適切な使用方法に左右される [5]。本事例において、3 月 25 日のモニタリングでは、飼養牛は全頭陰性であったが、子牛飼養区画の床および飲水

バケツから SD が分離された。環境消毒は、当初は畜主による消石灰散布のみにとどまっていたが、これらの場所は清掃、消毒が不十分であった可能性が高い

そこで、消毒薬の選択、敷料除去、洗浄、風乾、噴霧の手順を具体的に指導した結果、以降の検査で SD は検出されなくなった。適切な消毒方法の指導が、清浄化の達成に不可欠であることが示唆された。

3. 区分管理の意義

農場では、子牛エリアと成牛エリアの区分管理を実施しており、専用長靴の使用や専用衣服着用の徹底が SD のまん延防止に寄与した。本事例では、これらの管理策が環境消毒とともに重要な役割を果たしたと考えられる。

結論

本事例では、増菌培地の遺伝子検出法を導入することで、*Salmonella* Dublin の検出時間が、最短で 1~2 日となり、従来の遅延二次増菌培養法の 12~14 日より 10 日以上短縮され、迅速なフィードバックを実現した。その結果、速やかな治療、隔離、環境対策を実施され、農場全体で 2 回連続の陰性を確認し、SD の清浄化を達成した。また、適切な消毒手順(糞便除去、洗浄、乾燥)の指導と区分管理の徹底は、SD のまん延防止に寄与した。本事例は、今後の SD 対策において迅速診断の重要性と、適切な消毒、管理の有効性を示した。

参考文献

- [1] 秋庭正人(2019)『動物の感染症』明石博臣, 内田郁夫, 大橋和彦, 後藤義孝, 須永藤子, 高井伸二, 宝達勉(編), 第 4 版, pp. 110-111, 近代出版.
- [2] 佐藤圭介, 他(2024): 「増菌培地と PCR を組み合わせた *Salmonella* Dublin 検出法の検討」, 令和 6 年度中部地区獣医師大会・獣医中部地区学会, 新潟
- [3] 秋川正人(2023): 「牛のサルモネラ症の概説」, 『臨床獣医』41(13), pp. 18-21, 緑書房
- [4] Laura B. Goodman et al. (2017): "Detection of *Salmonella* spp. in veterinary samples by combining selective enrichment and real-time PCR". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 29(6), pp. 844-851. <https://doi.org/10.1177/1040638717728315>
- [5] 竹原一明(2019)『畜産分野の消毒ハンドブック』, 公益社団法人 中央畜産会