

# 乳肉複合農家での *Salmonella* Bovismorbificans による乳用牛のサルモネラ症の発生と清浄化

西部家畜保健衛生所西讃支所

○ 高橋茂隆・小野耕一  
 笹田裕司・真鍋圭哲

## 1. はじめに

*Salmonella* Bovismorbificans (以下SB) は、国内外で人の食中毒の原因菌として報告されており<sup>1, 2, 3)</sup>、他には国内の自然環境や野生動物からも検出されている<sup>4)</sup>。一方、家畜、特に牛については国内では報告がなく、その病原性については不明である。

今回、管内の乳肉複合農家において、SBによる乳用牛のサルモネラ症が発生し、対策の継続により清浄化したので、その概要を報告する。

## 2. 発生農家の概要

発生農家(以下F農家)は、乳用牛90頭と肉用牛120頭の乳肉複合農家で、うち乳用牛は泌乳前期、後期、乾乳の3群に分けてフリーバーンで飼育している(表1)。

表1 F農家の概要

飼養形態		フリーバーン		フリーバーン		フリーバーン	
・乳肉複合経営		牛務所	子牛	乳牛前期	乳牛後期	肉牛	肉牛
乳用牛	90頭			適齢			
前期	45頭	バロウ・バーン	病畜	乳牛			
後期	35頭			乳牛乾乳			
乾乳	10頭						
肉用牛	120頭					肉牛	肉牛
子牛	20頭						二階

・フリーバーン、ミルキングパーラー方式

## 3. 発生経過

平成19年12月20日、乳用牛のうちの泌乳前期の群で全体的に食欲が低下し、残飼が目立った(表2)。翌日、1頭が泌乳を停止し、その後に激しい下痢となった。12月26日には別の1頭が同様な症状を呈し、最終的には7頭を治療し、そのうちの3頭が死亡した。

表2 発生経過

H19/12/20	乳用牛(前期)で食欲低下、残飼多
/21	1頭が泌乳停止、その後激しい下痢
/26	別の1頭が激しい下痢、泌乳停止
/27	立入検査(精密検査)
/31	初発牛死亡
H20/1/3	1頭死亡(病性鑑定)
/8	1頭死亡(病性鑑定)
	最終的に7頭治療、3頭死亡

12月27日、当所に家畜診療所から原因究明依頼があり、死亡牛2頭と下痢便などについて病性鑑定を実施した。

## 4. 病性鑑定成績

### 1) 臨床症状

臨床症状は、激しい水様性下痢と元気消失が共通していたものの、重症例では腰部から背部の広範な気腫、鼻腔からの出血と赤色尿、乳房が萎んでしまうほどの重度の泌乳停止や37℃の低体温などを呈して死亡したため、サルモネラ症というよりはクロストリジウム感染症やマイコトキシン中毒が疑われた(表3)。

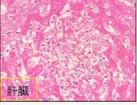
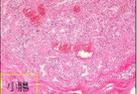
表3 臨床症状

共通	激しい水様性下痢、元気消失
重症例	腰部～背部の広範な気腫
	鼻腔からの出血と赤色尿
	重度の泌乳停止、低体温(37℃)
	死亡、起立不能、食欲廃絶、血便

### 2) 病理検査成績

病理検査では、剖検所見は小腸内に血様便の貯留や腸リンパ節の腫大であった。また、組織所見はサルモネラの特徴所見である肝臓の多発性巣状壊死や小腸粘膜固有層の細胞浸潤などであった(表4)。

表4 病理検査成績

検体	死体2頭	
剖検所見	小腸内に血様便貯留 腸リンパ節の腫大	
組織所見	肝臓: 小葉に多発性巣状壊死 広範な出血 グリソソ鞘にリンパ球、 マクロファージの浸潤	
	小腸: 粘膜固有層に出血、 リンパ球、好中球の浸潤	

### 3) 細菌検査成績

細菌検査は、1月4日に採材した下痢便の他に、TMRやサプリメント単体から多剤に感性を示すSBが分離された(表5、6)。しかし、感受性のある薬剤を投与したためか、死体などからは分離されなかった。また、クロストリジウムやウイルスなどのサルモネラ以外の病原体や所見も検出されなかったため、本症例をSBによる牛サルモネラ症と診断した。

表5 細菌、ウイルス検査成績

採材日	種類	材料	検体数	7&10	7001	7002
12/27	牛	下痢便	2	-	-	-
	牛	死体	1	-	-	-
1/4	牛	下痢便	7	+	-	-
		TM	12/31,1/3 1/4製造	3	+	NT
	飼料	サプリメント	1	+	NT	NT
1/8	牛	死体	1	-	-	-

同定: *Salmonella Bovismorbificans* (6,8:r:1,5)

表6 薬剤感受性試験成績

	下痢便							TMF			サブ
	1	2	3	4	5	6	7	12/29	1/3	1/4	1/4
AEFC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
AMFC	△	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○
CEZ	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○
CXM	○	○	×	○	○	△	○	○	○	△	○
SM	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
KM	○	△	△	○	○	△	△	△	△	△	△
GM	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
OTC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
CP	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
CL	○	○	○	×	○	○	○	△	○	○	△
FOM	△	○	○	×	△	○	△	△	△	○	○
NA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ST	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

○: 感性 △: 中間 ×: 耐性

5. 対策 (第1回)

以上の病性鑑定結果をもとに、畜主、家畜保健衛生所、家畜診療所の3者で対策を協議した (表7)。

まず、抗生剤治療を継続するとともに、関与が疑われたサプリメントの給与を中止し、生菌製剤を発生前の日量50gから200gへ増量給与した。

牛舎の清掃消毒をまめに行い、一斉消毒には家畜保健衛生所や農業共済組合の職員も協力した。また、消石灰を敷料に3%程度添加し、それを1週間おきに交換した。

さらに、疫学調査として、対策の効果を把握するためのSB追跡調査と、原因究明のための発生要因調査を行った。

表7 対策

1. 治療	抗生剤投与
2. 飼料添加	サプリメント給与中止(1/4~) 生菌製剤の増量(50g⇒200g/日) マイコキシン吸着剤給与
3. 消毒等	牛舎の清掃・消毒 敷料へ消石灰添加(3%) 敷料の交換(1週間間隔) 堆肥の完熟化
4. 疫学調査	SB追跡調査、発生要因調査

6. SB追跡調査

1) 材料及び方法

F農家のSB追跡調査は、2月から12月までに計6回のサルモネラの分離検査を行った (表8)。検査材料には牛糞便及び環境材料延541検体を用いた。検査方法は、常法により糞便はハーナーテトラチオン酸塩培地で増菌培養を行い、N-DHL培地、ESサルモネラ培地で分離培養を行った。また、環境材料などはペプトン水で前培養した後、牛糞便と同様に増菌培養と分離培養を実施した。さらに、分離率向上のために遅延二次増菌培養法も併せて実施した。また、9月に実施したブルセラ病定期検査の余剰血清89検体を用いて、マイクロタイター法によりSBの死菌凝集反応抗体検査を実施した。

表8 SB追跡調査(F農家)の材料及び方法

OSB分離検査(2, 3, 4, 6, 11, 12月採材)	
材料	糞便、環境等(延541検体)
方法	糞便: ハーナーテトラチオン酸塩培地(HTT)で増菌 環境等: ペプトン水、HTTで増菌 N-DHL、ESサルモネラ、遅延二次増菌培養法で分離
OSB抗体検査(9月採材)	
材料	ブルセラ病検査余剰血清: 乳用牛89検体
方法	死菌凝集反応検査

2) 成績

i) 牛糞便からの分離

対策の効果により、牛糞便からSBが分離されたのは2月に検査した泌乳前期の1頭のみで、その後は分離されず、11-12月にかけて実施した乳用牛の全頭検査においても陰性であった (表9)。

表9 SB追跡調査成績(糞便分離)

採材日	病性鑑定	追跡調査							
		12	1	2	3	4	6	11	12
乳用牛	前期	0/2	7/7	1/11	0/20	0/15	0/10	0/10	0/36
	後期	NT	NT	0/7	0/15	0/11	0/7	0/10	0/22
	乾乳	NT	NT	0/2	0/5	0/3	0/2	0/2	0/1
肉用牛	NT	NT	0/2	0/6	0/3	NT	NT	NT	
子牛	NT	NT	0/2	NT	NT	NT	NT	NT	

ii) 環境からの分離

環境材料については2月の検査で堆肥の他、発生時にサプリメントが置かれていた通路中央のほこりと2階とその階段のほこりからSBが分離された (表10)。その後は3月に泌乳前期と後期の群の敷料から分離されたのみである。

表10 SB追跡調査成績(環境分離)

	採材日	病性鑑定	追跡調査							
			12	1	2	3	4	6	11	12
敷料等	前期、後期	NT	-	+	-	-	-	-	-	
	乾乳、肉用牛	NT	-	-	-	-	-	-		
	子牛	NT	-	NT	-	-	-	-		
	畜舎	NT	-	NT	-	-	-	NT		
	堆肥	NT	+	NT	-	-	-	-		
	オガクズ	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT		
環境等	前期前、後期前、子牛前	NT	-	NT	-	-	-	NT		
	中央	NT	+	NT	-	-	-	-		
	奥	NT	-	NT	-	-	-	NT		
	TMF機械庫	NT	-	NT	-	-	-	-		
	バルコニー	NT	NT	NT	-	-	-	NT		
	バーレー	NT	-	NT	-	-	-	NT		
	2階、階段	NT	+	NT	-	-	-	-		
牛舎外、サプリメント	NT	-	-	NT	NT	NT	NT			

以上の成績をもとに、SBの分離場所を赤色で示した (図1)。SBは牛舎内に広く浸潤していたことが示唆された。

iii) 抗体検査

抗体検査では、発生直前に泌乳前期の群にいた牛とその後に同群に移動した乾乳牛や導入牛の抗体陽性率は各30%と23%と高く、後期の群は5%と低い陽性率であった (表11)。

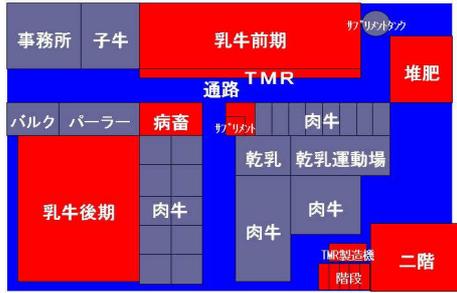


図1 SB分離場所

表11 SB抗体検査成績

抗体	発生直前の場所			計
	前期	後期	乾乳・導入	
有	11 (30%)	1 (5%)	9 (23%)	21 (22%)
無	26 (70%)	19 (95%)	30 (77%)	75 (78%)
計	37	20	39	96

7. 発生要因調査

1) 方法

発生要因調査は、原因究明のために飼料などの聞き取り調査と飼料などからSB分離調査を行なった。

まず、聞き取り調査は、畜主から発生状況や飼料の給与状況とその納入業者などについて調査を行った。また、各納入業者には管内酪農家への納入状況と異常の有無について、さらに家畜診療所には管内酪農家の異常の有無を調査した。

SB分離検査は二次汚染を考慮し、発生時と同ロットの未開封飼料を採取した。サプリメントのみは発生直後に業者が回収したため、サプリメントタンク内のふき取り材料について実施した。また、飲水やネズミの他、農場に住み着いていた十匹以上のネコの糞便についても行なった(表12)。

表12 発生要因調査(飼料等)の方法

- 聞き取り調査
  - F農家：発生状況、飼料の給与状況  
納入業者、乳量調査
  - 納入業者：管内酪農家への納入状況、異常の有無
  - 家畜診療所：管内酪農家の異常の有無
- SB分離検査(2、3月)
  - F農家の給与飼料、飲水、ネズミ、ネコ糞便

2) 成績

i) 発生状況調査

発生状況の聞き取り調査からは、以下のことが判明した(表13)。

- 発生は、サプリメントの給与群のみであったこと、
- 残飼には、サプリメントによく似た飼料が目立ったこと、
- サプリメントを新しいロットに切り替えた時期と初発が一致すること、
- サプリメントの給与中止直後に、急速に採食量と体調が回復し、その後は新たに発生がないこと、
- 死亡牛は泌乳前期の群内でも特に高泌乳牛で、かつ飼料を二度食いするなど採食量が多かったことから、給与飼料、特にサプリメントに問題があったのではないかと疑われた。

表13 発生要因調査の成績(1)

- 発生はサプリメント給与群のみ
- 残飼には、サプリメント様の飼料が目立った
- サプリメントの切り替えと初発が一致
- サプリメントの給与中止直後、採食量と体調が回復、新たな発生はない
- 死亡牛は特に高泌乳牛で、採食量が多い  
⇒給与飼料、特にサプリメントが問題?

ii) 給与飼料調査

次に、F農家の給与飼料の聞き取り調査では、飼料は全て購入しており、A社から11品目、B社から5品目、C、D、E、F各社から1~2品目がF農家に納入されており、発生があった泌乳前期となかった後期との違いは、やはりB社のサプリメントのみであった(表14、15)。

業者などへの聞き取り調査と当所の検査では、B社のサプリメント以外の飼料は特に異常は認められなかった(表16)。サプリメントについては、回収後のサプリメントタンク内のふき取り検査は陰性であり、B社独自の調査においても民間検査機関で実施した検査では異常はなかったそうである。また、このサプリメントは県内で他に使用している農家がなかったことから、それ以上に追跡することはできなかった。

表14 発生要因の調査成績(2-1)

品目	飼料名	発生直前	発生直後	発生
1	イタリヤン乾草	○	○	○
2	アルファルファ乾草	○	○	×
3	オーツヘイ	○	○	×
4	雑草	○	○	×
5	ビートパルプ	○	○	×
6	フスマ	○	○	×
7	煮抜き大豆	○	○	×
8	皮付き圧べん大麦	○	○	×
9	乳用牛配合飼料	○	○	×
10	Ca剤(ベレット)	○	○	×
11	子牛配合	×	×	×

表15 発生要因の調査成績(2-2)

品目	飼料名	発生直前	発生直後	発生
12	圧べんとうもろこし	○	○	×
13	サプリメント	○	×	×
14	乾乳配合	×	×	○
15	育成配合	×	×	○
16	肥育配合(F1用)	×	×	○
17	ビタミン剤(ベレット)	○	○	×
18	海草荒挽き	○	○	×
19	イーストカルチャー	○	○	×
20	生菌製剤(ベレット)	○	○	×
21	肥育配合(乳用)	×	×	×
22	TMR	○	○	×
23	飲水	○	○	○

表16 発生要因の調査成績(3)

業者	品目	発生直前	聞き取り調査		家畜検査
			発生	回復	
A社	11	0~12	異常なし	異常なし	陰性
B社	5	サプリ:0 サプリ以外:0~1	回収、民間の検査:陰性	他なし	飼料タンク:陰性
C社	2	0	異常なし	異常なし	陰性
D社	1	1	異常なし	異常なし	陰性
E社	1	2	異常なし	異常なし	陰性
F社	1	0	異常なし	他なし	陰性

○TMR(自家製)、飲水(自家水); 陰性  
○他要因: ネズミ、ネコ; 陰性

### iii) 出荷乳量の推移 (日量)

F農家の発生前後の出荷乳量は、12月21日の初発から1週間後に減少し、完全に回復したのは3月であった(図2)。

## 7. 対策 (第2回)

ほぼ落ち着いた4月に再度、状況についての検討とその後の対応を協議した(表17)。

2月以降には新たに下痢の発生は無く、4月にはSBが分離されなかったこと、さらに乳量も回復したことから一応の終息と判断した。

その後の対応は、畜主の希望からそれまでの対策を継続することとし、それらは現在も実施している。

また、その後の検査でもSBは分離されておらず、続発もないことから清浄化の達成と判断した。

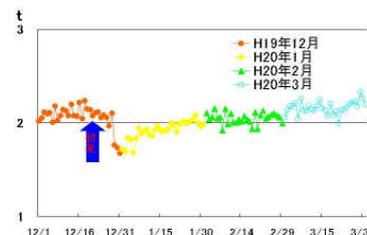


図2 F農家の出荷乳量推移(日量)

## 8. まとめ及び考察

管内の乳肉複合農家で発生したSBによる牛サルモネラ症は、乳用牛の一部に限局したもので、対策により被害が拡大せず、清浄化された。

聞き取り調査では発生は泌乳前期の群のみに確認され、かつ抗体検査からSB感染は泌乳前期の群内で起きていたことが推定された。しかし、3月の分離検査で泌乳後期の群の敷料からSBが分離されたことなどから、SBは牛舎内に広く浸潤していたことも示唆された。このことは、発生時には泌乳前期の群に一定量以上のSBが存在していたが、生菌製剤を発生前から少量ながらも給与していたことや発生後の増量給与により、SBが牛体内に定着しづらい状態であったため、泌乳前期以外の群には腸管内で通過菌として動き、そのため発症頭数が少なかったのではないかと思われる。また、消毒や消石灰を混じた敷料交換を積極的に実施したことにより、牛舎内のSBの菌量が低レベルで推移していったことが追跡調査成績から示唆されるなど、対策が有効に作用したものと考えられた。

臨床症状は激しい下痢の他に、従来のもの<sup>5)</sup>と異なる広範な気腫、重度の泌乳停止、低体温で死亡するなどの重篤化の傾向であった。このことを宿主側の要因から考察すると、死亡牛は泌乳前期の群内でも特に高泌乳牛で、かつ飼料を二度食いするなど採食量が多かったことから、泌乳のストレスとSBの摂取量が影響したものと推察した。

発生の原因としては、発生状況や病性鑑定時に高泌乳用のサプリメントからSBが分離されたため、感染経路はこのサプリメントが最も疑われた。しかし、納入業者が回収したことから現物を再検査できなかつたため、二次汚染の可能性も否定できず、非常に疑わしいという推論の域からは出なかつた。

最後に、今回認められた症状の重篤化などについて、SBの病原性などの病原体側の要因を検討することができなかつた。SBによる牛サルモネラ症は国内では珍しいため、今後の詳細な研究を期待したい。

### 参考文献

- 1) Puohiniemi R, et al. : J Clin Microbiol, 35(10), 2487-2491 (1997)
- 2) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報, 26, 154-158
- 3) 藤井伸一郎：岩手県環境保健研究センター年報, 7, 87-89 (2009)
- 4) Kobayashi H, et al. : J Vet Med Sci, 69(3), 309-311 (2007)
- 5) 鮫島俊哉：動物の感染症, 135-137 (2002)

表17 その後の対応

1. 4月に畜主及び家畜診療所と状況を検討	終息と判断
○SB分離陽性：糞便は2月まで 環境は3月まで	
○乳量 : 3月から完全に回復	
2. その後の対応を協議	
畜主の希望で、対策を継続	
3. 発生1年後の全頭検査で陰性を確認	清浄化達成