

8 管内大規模酪農場で発生した *S. Dublin* による 牛サルモネラ症について

上北地域県民局地域農林水産部十和田家畜保健衛生所

○大澤 光紗 角田 公子
関合 哲 太田智恵子
須藤 隆史

1 はじめに

牛サルモネラ症の原因菌の一つとされる *Salmonella Dublin* (以下、SD) は、近年検出が増加傾向にある。発熱、肺炎症状、流産等が症状として現れ、下痢症状が認められない場合があり¹⁾、糞便に菌が排菌されにくいと報告されている²⁾。

令和4年10月、SDによる牛サルモネラ症が管内酪農場で発生したため、その症例について報告する。

2 発生概要

令和4年9月から10月にかけて、管内酪農場にて、1~3週齢の子牛が発熱、下痢、肺炎症状を呈して死亡する事例が続いていると、管理獣医師から相談があった。その後、10月12日に死亡した子牛を始め、死亡した子牛3頭及び流産胎子2頭の病性鑑定を実施した。

表1 発生概要

発生時期	区分	頭数	日齢 (胎齢)	症状	品種	解剖	病理
R4.9	子牛	2		発熱 下痢			
R4.10月上旬	子牛	2		下痢			
R4.10.12	子牛	1	7	下痢	B	○	
R4.10.17	子牛	1	19	発熱 下痢	F1	○	○
R4.10.17	胎子	1	(185)		F1	○	○
R4.10.21	胎子	1	(210)		D	○	○
R4.10.27	子牛	1	10	肺炎	D	○	○

3 病性鑑定

(1) 材料と方法

ア ウイルス学的検査

子牛糞便を材料とし、イムノクロマト法で実施した。

イ 寄生虫学的検査

子牛糞便を材料とし、イムノクロマト法及び浮遊法を実施した。

ウ 病理学的検査

死亡した子牛3頭及び流産胎子2頭の剖検を行い、このうち死亡子牛2頭、流産胎子2頭について、主要臓器及び腸間膜リンパ節、

胎盤、臍帯を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後薄切し、HE 染色、グラム染色、PTAH 染色、抗サルモネラ 09 群血清を用いた免疫組織化学的染色を行った。

エ 細菌学的検査

子牛、流産胎子全頭の主要臓器及び糞便、その他に腸間膜リンパ節、胃内容、胎盤、尿を材料とし、常法に従い培養を行った。分離された菌は、市販のキットで同定し、血清型別は市販の抗血清を用いて実施した。

(2) 検査結果

ア ウイルス学的検査

ロタウイルス、コロナウイルスともに陰性であった。

イ 寄生虫学的検査

イムノクロマト法でクリプトスポリジウムが陽性であったため、浮遊法を実施したが、虫卵、オーシスト陰性であった。

ウ 病理学的検査

剖検では、死亡子牛は下痢便が臀部に付着しており、流産胎子は皮下、筋肉、臓器に捻髪音を伴う気腫を形成していた。死亡子牛では全頭で肺が肝変化しており、1 頭で胸水の貯留が認められた (図 1)。また、腸間膜リンパ節の腫脹 (図 2)、第四胃粘膜の点状出血 (図 3)、肝臓の著しい腫大 (図 4)、肝臓実質に白斑が認められた。

組織所見を表 2 に示した。HE 染色では、各臓器で壊死や血管病変が認められた。特に病変が強く見られたのは肝臓及び肺で、肝臓ではチフス様結節が認められた。肺では、肺胞内への繊維素の析出、肺胞上皮細胞の壊死及び多数の多核巨細胞 (矢印) が認められた (図 5)。また、PTAH 染色で繊維素が青染された (図 6)。

グラム染色では 4 頭中 3 頭の臓器でグラム陰性菌が確認され、臓器で確認されなかった 1 頭では、臍帯で菌を確認した。(表 3)

抗サルモネラ 09 群血清を用いた免疫組織化学的染色では、菌体が確認されたもの全てで陽性を示した。(図 7)



図 1 肺の肝変化及び胸水の貯留

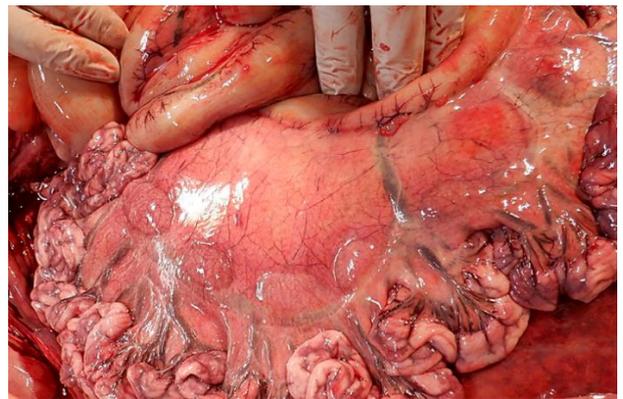


図 2 腸間膜リンパ節の腫脹



図 3 第四胃粘膜の点状出血

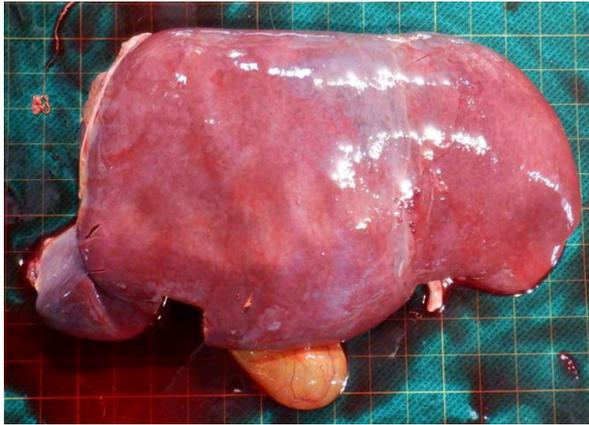


図4 肝臓の著しい腫大

表2 組織所見

	肝臓		脾臓	腎臓	心臓	肺		リンパ節
	壊死	血管病変	壊死	壊死	壊死	壊死	血管病変	壊死
子牛	+++	++	+++	-	+	+++	+++	++
流産胎子	-	+	++	+++	+	-	-	+
流産胎子	++	-	+	-	-	-	+	-
子牛	+++	++	-	-	-	+	+	++

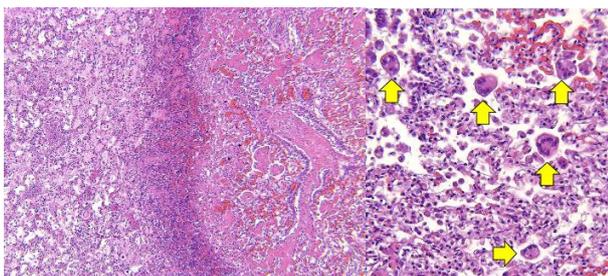


図5 肺の HE 染色

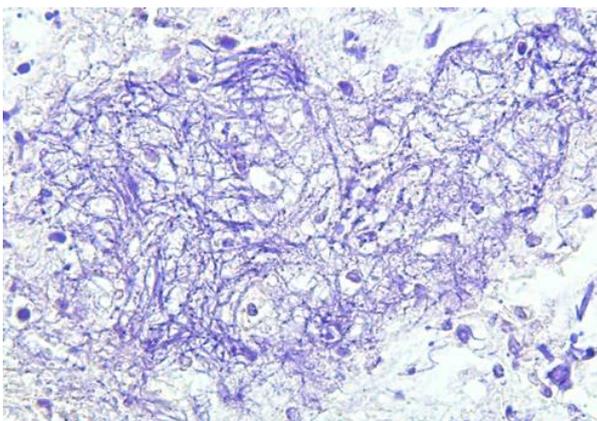


図6 肺の PTAH 染色

表3 細菌の有無

	肝臓	脾臓	腎臓	心臓	肺	リンパ節	その他
子牛	-	+	+	+	+	+	
流産胎子	+	-	+	+	-	+	胎盤+
流産胎子	-	-	-	-	-	-	臍帯+
子牛	+	-	-	-	+	+	

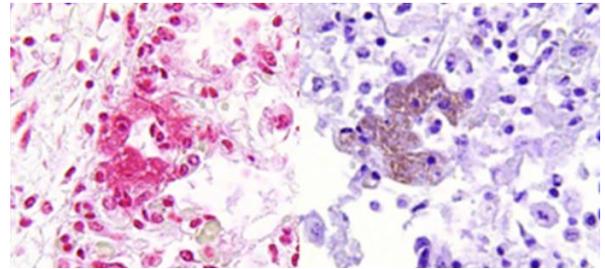


図7 肺のグラム染色、免疫組織化学染色

エ 細菌学的検査

5頭の主要臓器全てからSDが分離された。また、腸間膜リンパ節、胃内容、胎盤、尿からもSDが分離された。しかし、どの個体も糞便からはSDが分離されなかった(表4)。

表4 SD分離検体(陽性/検査数)

	子牛	胎子
心	3/3	2/2
肝	3/3	2/2
腎	3/3	2/2
脾	3/3	2/2
肺	3/3	2/2
腸間膜リンパ節	3/3	NT
胃内容	3/3	1/1
胎盤	NT	1/1
尿	NT	1/1
直腸便	0/3	0/2

4 浸潤状況検査

農場のSD浸潤状況について、検査を行った。発生後の検査で菌分離陽性だった物については、3か月後に再検査を行った。

また、死亡子牛の糞便から菌が分離されなかったことをふまえ、菌分離と併せて LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplifica-

tion) 法も実施した。

(1) 材料と方法

発生牛舎の同居牛 22 頭の糞便及び口腔拭い液合わせて 44 検体と、発生牛舎の飼槽、水槽等の環境拭取り材料 61 検体、合計 105 検体でサルモネラの分離培養を行った。LAMP 法は、Qiamp DNA Stool Minikit (キアゲン社) で DNA を抽出後、Loopamp サルモネラ検出試薬キット (栄研化学 (株)) に蛍光試薬を添加し、説明書通り反応後、目視での判定を行った (図 8)。

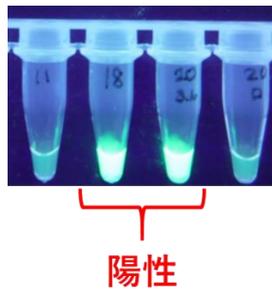


図 8 LAMP 法

(2) 検査結果

培養では、糞便 1 検体、哺乳ロボットの乳首 6 検体の、計 7 検体で菌が分離された。LAMP 法では、菌分離で陽性だった検体のほか、親牛の糞便 1 検体がさらに陽性となり、計 8 検体で陽性が確認された (表 5)。

農場で消毒、ワクチン接種、生菌剤投与の対策を行った 3 か月後の検査では、菌分離陽性であった全ての検体で陰性を確認した。

表 5 浸潤状況検査

材料	検体数	菌分離陽性	LAMP陽性
糞便	22	1	2
口腔	22		
飼槽	22		
水槽	10		
鉱塩	7		
哺乳ロボ乳首	19	6	6
通路	2		
餌押しロボ	1		
合計	105	7	8

5 疫学調査

(1) 材料と方法

ア 薬剤感受性試験

1 濃度ディスク法により 18 薬剤で実施した。今回の分離菌に加えて、本県での過去の SD 発生事例 (平成 6 年 2 事例、平成 11 年 1 事例) の分離株についても試験を実施し、比較を行った。

イ プラスミドプロファイル

薬剤感受性試験を行った分離株について、関崎の変法によりプラスミドを抽出した。

(2) 結果

ア 薬剤感受性試験

本症例の菌株は多くの薬剤に耐性を持っており、平成 6 年の 2 事例、平成 11 年の 1 事例の分離株では感受性であった、CEZ、CFX、GM、TC、DOXY、CP の 6 種の薬剤で、耐性を示した (表 6)。

表 6 薬剤感受性試験結果

	PC	ABPC	CEZ	CXM	CFX	SM	KM	GM	TC	DOXY	NA	OFLX	NFLX	CPFX	CP	FOM	ST	CL
H6	R	R	I	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
H6	R	S	S	I	S	I	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
H11	R	S	S	S	S	I	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
R4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	I	R	S	S	S

イ プラスミドプロファイル

SD に特異的な位置にバンドを示した他、別の位置にもバンドを示した菌株があった (図 9)。

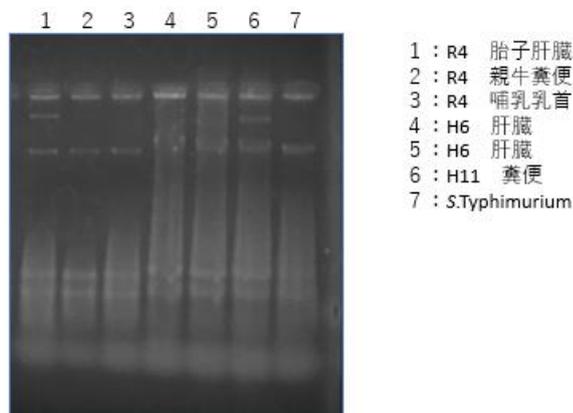


図 9 プラスミドプロファイル結果

6 まとめ

本症例では、流産胎子及び肺炎の子牛から SD が分離された。病理学的検査では多くの臓器で菌体が確認されたが、糞便検査では SD が分離されたのは 1 検体のみであった。

既報では、口腔から菌分離されるといわれているが³⁾、今回の症例では、子牛の哺乳ロボットの乳首から菌が分離され、親牛の口腔からは分離されなかった。

また、SD の薬剤感受性は、過去発生事例の分離株よりも多剤耐性化しており、プラスミドプロファイルでも異なる位置にバンドが検出された。LAMP 法では、菌分離よりも高率に SD を検出することができた。

7 考察

本症例では、哺乳ロボットの乳首及び流産胎子が汚染源となり、感染が広がったと推察された。侵入経路は特定に至らなかったが、今回発生した農場では、定期的に県外から育成牛の導入があり、それが一因であると考え

られ、現在は消毒、ワクチン接種、生菌剤投与により沈静化している。

今回実施した LAMP 法は菌分離よりも感度が高く、現地家保での浸潤状況調査等で有用である可能性が示された。

また、プラスミドプロファイル及び薬剤感受性については、さらに詳細な病原検索が必要である。

他県で SD による牛サルモネラ症が増加傾向であることから、下痢症状を主体としたサルモネラ症との病態の違いを把握する必要があり、同様な症例が発生した場合に、早期診断及び損耗防止のための適切な検査方法を検討していく所存である。

8 参考文献

- 1) 上垣華穂ら: *Salmonella* Dublin による牛サルモネラ症の病理学的検索、第 62 回国家畜衛生業績発表会集録
- 2) 大塚円花ら: 管内大規模酪農場で発生した *Salmonella* Dublin による牛サルモネラ症への防疫対応とその成果について、第 69 回家畜衛生業績発表会集録
- 3) <https://www.nosai-do.or.jp/manage/wp-content/uploads/2022/03/744537eede093da5a76c7a935adff43.pdf> (最終閲覧 2023. 3. 14)