

## 16 渡島管内で発生した牛サルモネラ症の疫学解析

渡島家畜保健衛生所

○川崎 昌美 多田 規子

### はじめに

渡島管内では、平成 24 年から令和元年までの過去 8 年間、牛サルモネラ症の発生件数は年間 3 件以下で推移してきた。しかし、令和 2 年 4 月から発生件数が急増し、令和 3 年 4 月までの間に合計 4 町 9 件の発生があった（全て酪農場での発生）（図 1）。

血清型の内訳は、*Salmonella* Typhimurium (ST) 8 件（うち 7 件は血清型 4:i:- の非定型 ST）及び *Salmonella* Livingstone (SL) 1 件であった（図 1）。

また、渡島管内から出荷した牛が、出荷先の着地検査でサルモネラの保菌牛として摘発される事例が 4 件あった（血清型は全て SL）。

当所では、管内で牛サルモネラ症の発生が急増したことを受け、分離された菌株について遺伝子解析及び薬剤感受性試験を実施するとともに、発生農場等の疫学調査を実施し、今後のサルモネラ防疫に役立てることとした。

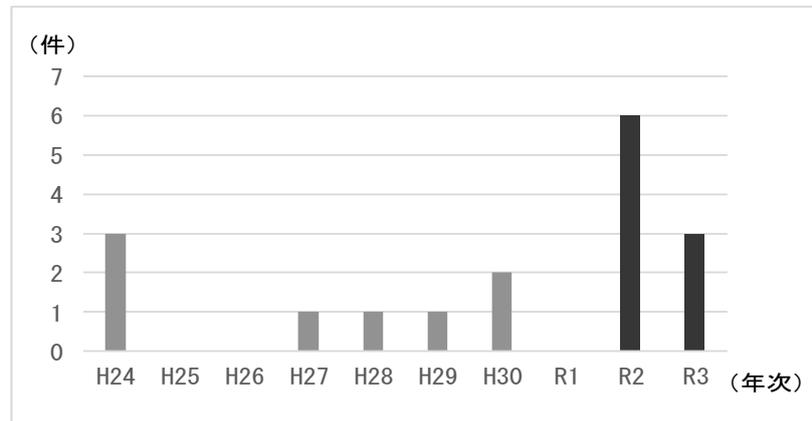


図 1 渡島管内の牛サルモネラ症発生状況

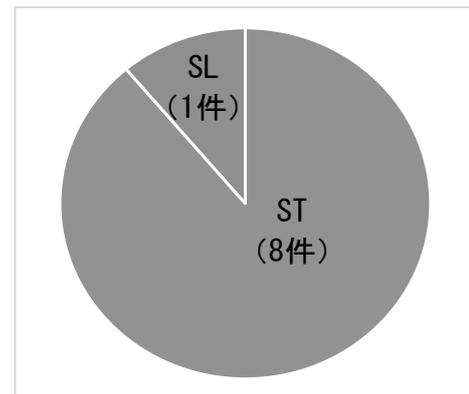


図 2 発生農場の血清型内訳

## I 材料及び方法

### 1 遺伝子解析

令和 2 年 4 月から令和 3 年 4 月までの期間に分離され、保存されていた牛由来サルモネラ属菌株の ST7 件 22 株及び SL5 件 6 株合計 12 件 28 株を材料とした。ST については制限酵素 Xba I で DNA を切断後、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を実施し、その泳動パターン等から 9 つの SNP 型別を行った。SL については PFGE の情報が少ないため、制限酵素 Xba I 及び Bln I で DNA を切断後、PFGE を実施した。

### 2 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、12 件 28 株のうち 12 件 12 株 (ST7 株、SL5 株) について、1 濃度ディスク法で行った。薬剤は 16 剤 (ペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、セファゾリン(CEZ)、セフトリオキサム(CEF)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、エリスロマイシン(EM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、エンロフロキサシン(ERFX)、オルビフロキサシン(OBFX)、ナリジクス酸(NA)、ST 合剤(SXT)、ホスホマイシン(FOM)) について実

施した。

### 3 疫学調査

飼養者及び関係機関に聞き取りを行い、農場間の距離、集乳ルート、共通の TMR センターの利用、その他の共用施設の有無について調査した。

## II 結果

### 1 遺伝子解析

#### (1) ST について

ST は、PFGE のパターンから 3 つのタイプ (a 株、b 株、c 株) に分けられた (図 3)。a 株に分類した 5 件 5 農場 18 株は SNP9 型で、全て非定型 ST であった。b 株に分類した 1 件 1 農場 2 株は非定型 ST で、SNP 型別は不能であった。c 株に分類した 1 件 1 農場 2 株は、定型の ST、SNP6 型であった。

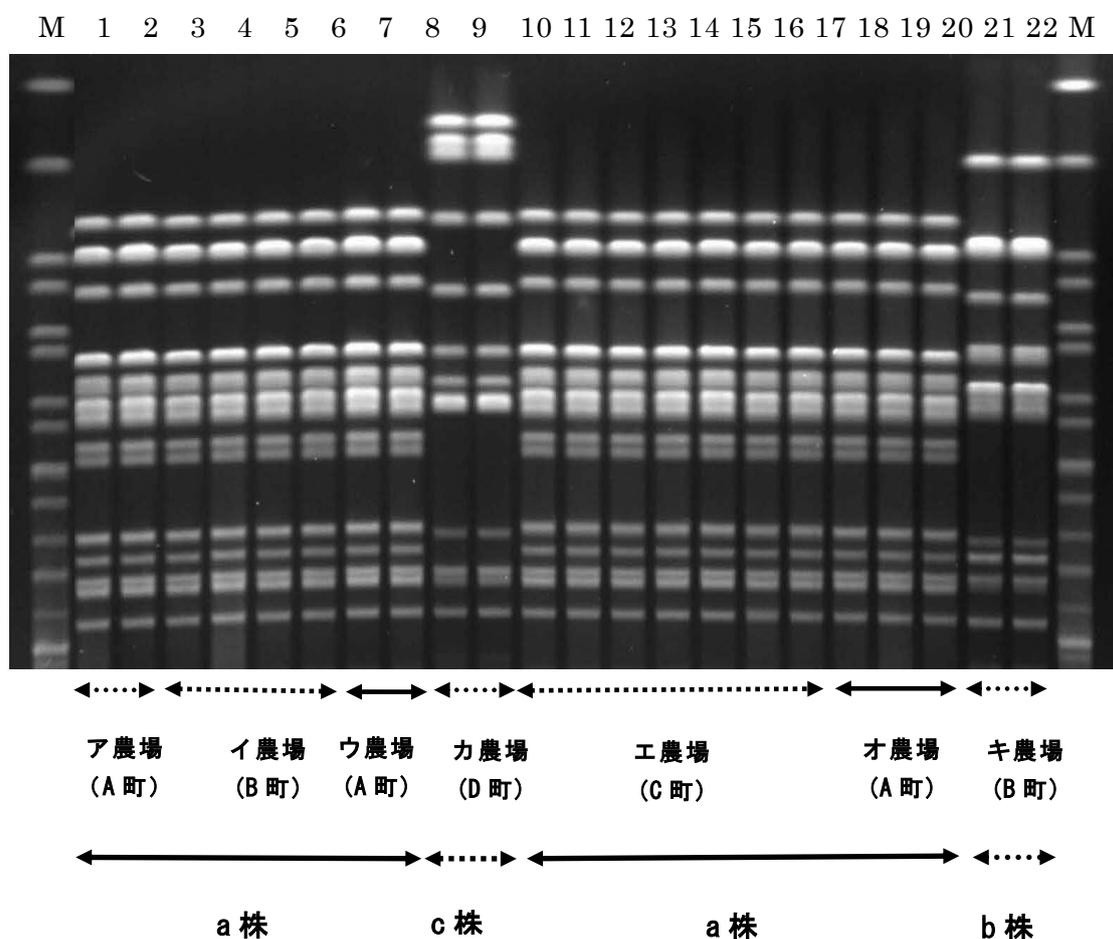


図 3 ST の PFGE 像 (Xba I)

#### (2) SL について

SL の PFGE 像は、制限酵素 Xba I 及び Bln I のいずれで DNA を切断した場合も、5 件 3 農場 6 株全てが同様の泳動パターンを示した (図 4)。

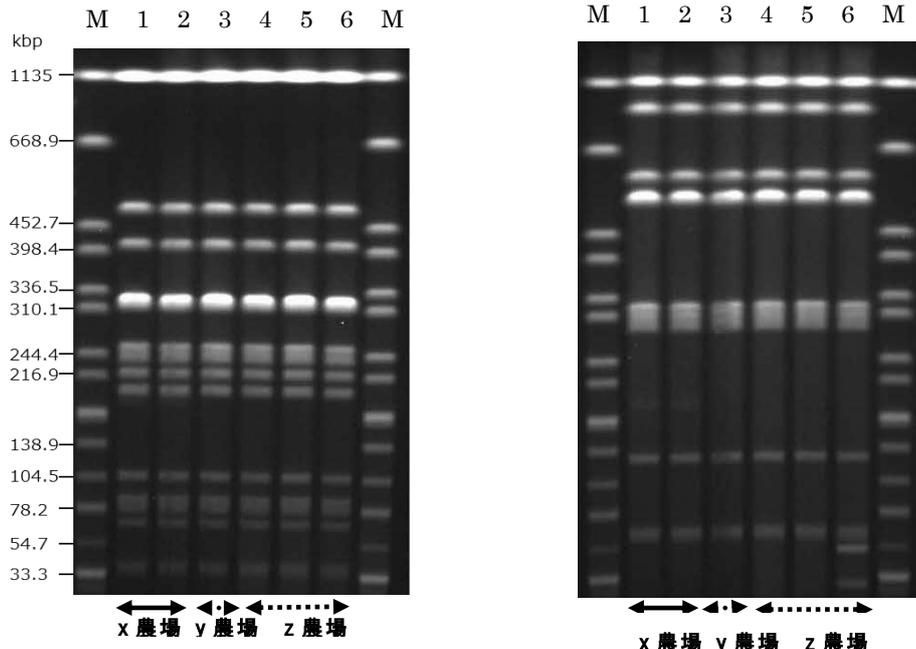


図4 SLのPFGE像(左: Xba I、右: Bln I)

## 2 薬剤感受性試験

### (1) STについて

a株は同様の薬剤感受性パターンを示し、5株全てが4剤(PCG、ABPC、SM、EM)に対して耐性、5株中1株がCEFに耐性、その他の薬剤に対しては感受性または中間を示した(表1)。b株2株は全て2剤(PCG、EM)に対して耐性、c株(1株)はPCGのみに対し薬剤耐性を示した。

表1 ST a株の薬剤感受性試験結果

抗菌性物質	S(感受性)	I(中間)	R(耐性)
ペニシリン(PCG)	0	0	5
アンピシリン(ABPC)	0	0	5
セファゾリン(CEZ)	5	0	0
セフトオフル(CEF)	4	0	1
ストレプトマイシン(SM)	0	0	5
カナマイシン(KM)	5	0	0
ゲンタマシン(GM)	5	0	0
エリスロマイシン(EM)	0	0	5
オキシテトラサイクリン(OTC)	3	2	0
テトラサイクリン(TC)	5	0	0
クロラムフェニコール(CP)	5	0	0
エンロフロキサシン(ERFX)	5	0	0
オルビフロキサシン(OBFC)	5	0	0
ナリジクス酸(NA)	5	0	0
ST合剤(SXT)	5	0	0
ホスホマイシン(FOM)	5	0	0

## (2) SLについて

SL5 株については株間で差異が見られ、2~8 剤耐性まで変化に富んでいた（表 2）。

表 2 SLの薬剤感受性試験結果

農場	耐性薬剤数	耐性薬剤							
		PCG	CEF	EM	OBFX	NA			
x	5	PCG	CEF	EM	OBFX	NA			
y	5	PCG	CEF	SM	EM	OBFX			
z	5	PCG	CEF	SM	EM	OBFX			
z	2	PCG	EM						
z	8	PCG	SM	CEZ	CEF	EM	TC	OBFX	NA

## 3 疫学調査

### (1) ST a 株について

a 株の 5 農場のうち、A 町の 3 農場は比較的近隣に位置し、互いに 5km 以内であったが、B 町と C 町の各 1 農場はその他の農場と 30km 以上離れていた。また、共通して利用する施設はなかった。

### (2) SL について

SL が分離された 3 農場 (x、y、z) は、農場間の距離が 4km 以内と近く、特に x 農場と y 農場は 450m しか離れていなかった。集乳ルートは 3 農場とも同じであった。x 農場と z 農場は同一の TMR センターを利用しており、また、x 農場のバイオガスプラントに z 農場から糞尿を搬入しているなど、x 農場と z 農場は共有施設が多かった（図 5）。

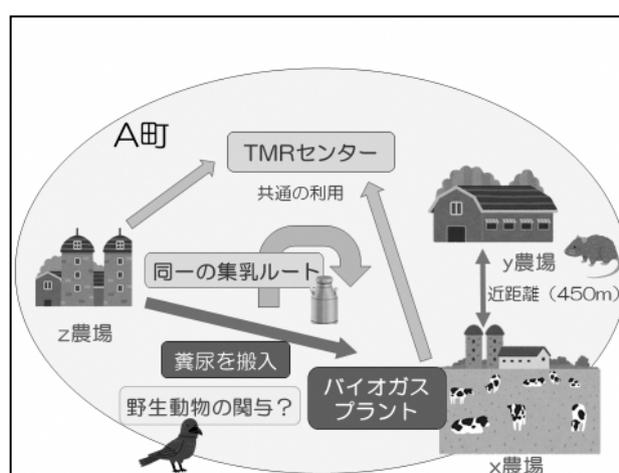


図 5 農場間の疫学関連(SL)

## III 考察

渡島管内で令和 2 年 4 月から令和 3 年 4 月までの期間に分離された ST のうち、最も多かった a 株は、2011 年以降全国的に最も多く分離されている SNP9 型で[1]、渡島管内でも同じ傾向が確認された。a 株 18 株は PFGE 泳動パターンだけでなく薬剤感受性についても互いに極めて類似しており、同一由来株と推測された。一方、a 株が分離された 5 農場の地理的分布は、A 町 3 農場は 5km 以内で近距離に位置していたが、その他の 2 農場 (B 町及び C 町) は A 町の 3 農場と 30km 以上離れており、A 町以外の 2 農場同士は 103km 離れていた。また、これらの 5 農場に特に密接な疫学的関連は認められず、このように広範囲に a 株が広がった原因は不明だった。野生動物の関与も可能性としては考えられるが、農場付近に生息するカラス、スズメ、エゾシカ等の行動範囲は 30km 以内と考えられ、可能性は低いと思われた。牛、人、車両等が関与した場合、これらによる 100km 以上の同一由来株の拡散も考えられるが、農業協同組合や農業共済組合の支所や診療所等も共通しておらず、その他同一の人や車両が出入りする関連を見つけれなかったため、a 株が広がった原因は不明であった。

ST の b 株は a 株と同じ非定型 ST であったが、SNP 型別は不能で、a 株とは PFGE で

バンドの相違が 7 本以上認められることから、既知の SNP1~9 型とは別のタイプの非定型 ST が管内に侵入した可能性が考えられる。c 株は定型の ST で、こちらは SNP6 型に分類された。SNP6 型は 1977 年から 1990 年にかけて全国的に牛や豚から多く分離された型である[1]。このことから、管内には古いタイプのサルモネラが環境中または牛などで維持されてきた可能性が考えられる。

SL6 株は PFGE 泳動パターンが極めて類似しており、同一由来株と考えられ、これらは狭い範囲でかつ密接な疫学的関連を持つ A 町の 3 農場の中で容易に伝播し、牛サルモネラ症の発症や保菌を起こしたものと推測された。薬剤感受性を調べた SL5 株のうち、4 株は薬剤耐性が進んでいた。特に、これら 4 株が第 3 世代セファロスポリンであるセフトオフルやニューキノロン系のオルビフロキサシン、キノロン系のナリジクス酸に耐性を示していることは、対策期間の延長や、人に対しての薬剤耐性菌としても問題である。このような多剤耐性菌の保菌牛が出荷先の着地検査で摘発されたことは、牛の移動による他の農場への多剤耐性菌の侵入と、対策困難な牛サルモネラ症の発生につながる可能性も考えられ、抗菌性物質の適正使用を継続的に獣医師に啓発していく必要性がある。

近年農業協同組合や農業共済組合の広域合併や、牛の預託、TMR センターの普及に伴い、牛、人、車両の移動は広範囲に及んでいる。農場に出入りする関係機関は、自らが病原体の伝播源とならないため、車両や靴底等の消毒を徹底する必要がある。飼養者は飼養衛生管理基準の遵守を更に徹底し、自農場への伝染性疾病の侵入防止を図ることが重要である。また、導入牛のサルモネラ検査はサルモネラの農場への侵入防止に有効と考えられた。

## 引用文献

- [1] Nobuo Arai, Tsuyoshi Sekizuka, Yukino Tamamura, Kiyoshi Tanaka, Lisa Barco, Hidemasa Izumiya, Masahiro Kusumoto, Atsushi Hinenoya, Shinji Yamasaki, Taketoshi Iwata, Ayako Watanabe, Makoto Kuroda, Ikuo Uchida, Masato Akiba, : Phylogenetic Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variant Isolated from Food Animals in Japan Revealed Replacement of Major Epidemic Clones in the Last 4 Decades, *J Clin Microbiol*, 56, e01758-17(2018)