

全国農業共済協会会長賞

サルモネラ症による子牛の死亡事故が多発した酪農場における 新生子へのワクチン接種効果

つちや よしゆき 宇山 環 藪田 拓生
土谷 佳之 三浦 新平 加藤 敏英

NOSAI 山形 置賜家畜診療所

(〒 992 - 0002 山形県米沢市窪田町矢野目 3668 - 3)

(E-mail : tsuchiya_yoshiyuki@yynosai.or.jp)

要 約

管内大規模酪農場において、*Salmonella* O4群を原因とする子牛の腸炎による死亡事故が多発したため、新生子へサルモネラ症不活化ワクチン接種を行った。ワクチンは、出生翌日または3日齢およびその3週後に接種した。その結果、死亡率は接種開始前24週間の32.8% (40/122) から開始後24週間の6.9% (9/131) に有意に低下した ($P < 0.01$)。また、月毎の治療率 (月出生頭数の内、治療した個体の割合) は、徹底した消毒直後に低下する傾向が認められた。通常、ワクチンは、血中の移行抗体価が高い若齢期には接種すべきでないとされているが、今回、子牛のサルモネラ症に対しては出生直後のワクチン接種により臨床的な効果が得られたことから、このワクチンが子牛の免疫に何らかの影響を及ぼしたことが示唆された。

【キーワード：子牛，早期接種，不活化ワクチン，*Salmonella* O4群，サルモネラ症】

..... 家畜診療, 63, 339-347 (2016)

牛のサルモネラ症は、種々の血清型のサルモネラに起因する人獣共通感染症で、我が国においてはO抗原に基づく血清学的分類でO4群に属する *Salmonella* Typhimurium が最も多く分離されている¹⁻²⁾。近年では、搾乳牛での本症の発生増加が問題視されているが³⁻⁴⁾、従来から子牛の下痢、敗血

症をもたらす疾病として重要視され、1カ月齢未満の子牛で多発し、死亡率も高いとされている¹⁻³⁾。

発症牛に対しては、サルモネラ属菌が感受性を示す抗菌剤治療や生菌製剤の経口投与が有効とされ、それに関する報告も数多い^{4, 5-7)}。また、サルモネラ症の発生農場におけるワクチン対策の有効性も報

告されている⁸⁾。しかし、出生間もない新生子牛に対するワクチン接種効果については、これまで報告がない。このような状況のなかで、一酪農場でサルモネラ症による子牛の死亡事故が多発したケースに遭遇し、死亡事故を低減させる目的で新生子牛に対するワクチン接種を試みた。本研究の目的は牛サルモネラ症不活化ワクチン⁹⁾の新生子牛に対する臨床的な効果を調べることとした。

材料および方法

【農場の概要】

搾乳牛飼養頭数は320頭で、フリーストール牛舎(280頭)と対尻式係留牛舎(40頭)の2箇所¹⁰⁾に飼養されていた。両牛舎は、直線距離で約500 m離れていた。子牛は、係留牛舎に隣接した専用牛舎(約50頭飼養可)と係留牛舎内の専用スペース(約30頭飼養可)で飼養されていた。係留牛舎内では、成牛と子牛が直接接触することはなかった。ほとんどの子牛は黒毛和種との交雑種であり、1割弱がホルスタイン種もしくは受精卵移植による黒毛和種であった。基本的にホルスタイン種の自家育成は行っておらず、大部分は北海道から導入されていた。

【子牛の飼養状況】

分娩前の母牛には下痢5種ワクチン(牛下痢5種混合不活化ワクチン、(株)微研)を使用していた。初乳には母牛の初乳、もしくは初乳製剤(ヘッドスタート[®]、バイエル薬品(株)のどちらか一方を使用し、初乳製剤の利用率が50%超であった。1週齢で6 L/日(TDN:1,236 g, CP:336 g, EE:180 g)、4週齢で10 L/日(TDN:2,060 g, CP:560 g, EE:300 g)の代用乳給与を行い、1.5カ月齢までには出荷していた。子牛舎では1頭ごとにマス飼いされ、敷料はオガクズを使用し、飼養面積は1.3×1.3 mであった。

【子牛舎の消毒】

平成26年8月、同年10月から11月、平成27年3月から4月、同年8月から9月の計4回、子牛舎をオー

ルアウトし子牛舎全体の消毒を行った。このうち、平成26年の2回はアルデヒド系消毒薬(グルター-Z、ヤシマ産業(株))と石灰(場所により生石灰と消石灰の併用、もしくはどちらか一方の使用)、平成27年の2回は逆性石けん(アストップ、Meiji Seikaファーマ(株))と石灰を使用した。アストップは発泡消毒として使用した。子牛舎をオールアウトした時期は、係留牛舎の子牛飼養スペースを使用した。

【子牛の腸炎発生状況】

この農場では、以前よりロタウイルスやコロナウイルス、クリプトスポリジウムなどによる子牛の腸炎が多発していた。そのため平成25年10月から生菌製剤給与、平成26年1月から栄養改善を目的に哺乳量を増量したものの腸炎発生は低減せず、同年秋からは死亡率が上昇し始めた。この頃より臨床症状からサルモネラ属菌の関与を疑い、抗菌剤の第一選択薬をβラクタム系からサルモネラ属菌の耐性率が低いフルオロキノロン系⁹⁾としたが死亡率は低減せず、平成27年2月のワクチン接種開始前には50%を超えた(図1)。下痢便の主な性状は黄色～黄褐色で粘性を伴っており、一部症例では便の悪臭やさまざまな程度の血便も認められた。平成26年12月から平成27年2月に実施した糞便検査(n=8)では、*Salmonella* O4群の他、*Clostridium perfringens* やロタウイルス等が検出された(表1)。また、*Salmonella* O4群の菌数が10⁶ CFU/mL以上検出された個体は全例死亡し、解剖を行った個体では腸管リンパ節の重度腫脹、腸管の漿膜面および粘膜面の充出血、四胃粘膜面の充出血を認めた。腸管内に悪臭を伴うガスの貯留はみられなかった。

【ワクチン接種】

以上のことから、高い死亡率を招いた腸炎の主因は*Salmonella* O4群と診断し、牛サルモネラ症不活化ワクチン(ボピリス[®]S、(株)インターベット)接種を試みた。

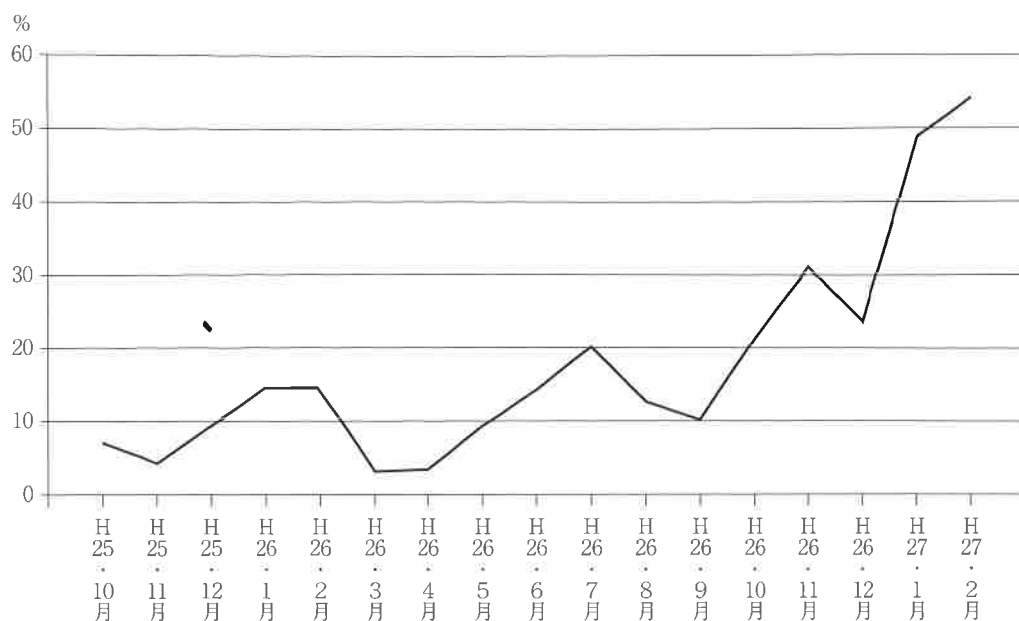


図1 子牛の腸炎による月毎の死亡率の推移(H27年2月のワクチン対策前まで)

1) 子牛への接種

まず、平成27年2月24日に飼養されていた全ての子牛に対し一斉に接種し、それ以降に出生した子牛には3日齢(出生日を0日齢とする)に初回接種を実施し、それぞれ3週後に2回目の接種を実施した。その後、3日齢以前に発症する例が散見されたため、5月17日より1回目の接種を1日齢とした。

2) 成牛への接種

成牛へのサルモネラ症の侵入および蔓延予防の観点から、平成27年3月6日より成牛全頭へ実施した。なお、成牛でのサルモネラ症を疑う臨床症状は、子牛の腸炎による死亡が多発していた時期にもみられなかった。

なお、ワクチンは子牛、成牛とも2mL/回を頸部皮下に注射した。

【調査項目】

1) ワクチン接種の臨床効果

子牛へのワクチン接種開始前後それぞれ24週間の、2週間毎の子牛の腸炎による死亡頭数、同期間の死亡率(死亡頭数/出生頭数)、平成26年6月から

平成27年10月までの月毎の子牛腸炎での治療率(月出生頭数の内、治療した個体の割合)、生存群と死亡群の平均治療開始日齢および平均治療回数とした。統計解析には χ^2 検定および対応のないt検定を用いた。いずれも危険率5%未満を有意差ありとした。

2) 糞便検査

ワクチン接種開始前と同様に、開始後の平成27年8月から11月にかけて、子牛(n=25)およびフリーストール牛舎(分娩群を含む)および係留牛舎で飼養されている成牛(n=11)の糞便を用い微生物学的検査を実施した。検査対象はサルモネラ属菌、*C. perfringens*、ロタウイルス、コロナウイルス、クリプトスポリジウムとし、細菌に関しては菌数(CFU/mL)と薬剤感受性(最小発育阻止濃度; MIC)を調べた。供試薬剤はエンロフロキサシン(ERFX)、アンピシリン(ABPC)、セファゾリン(CEZ)、カナマイシン(KM)、オキシテトラサイクリン(OTC)とした。以上の検査は(株)京都動物検査センターへ依頼した。

表1 ワクチン接種前後の子牛の糞便検査成績

No.	日齢	採材日	Salmonella O4群		C.perfringens		ロタ ¹⁾	コロナ ²⁾	クリプト ³⁾	転帰
			分離	菌数 (CFU/mL)	分離	菌数 (CFU/mL)				
1	37	12/24	+	4.4×10 ⁶	+	4.8×10 ⁵	-	-	-	死亡
2	10	1/17	+	1.2×10 ⁸	+	3.3×10 ⁶	+	-	+	死亡
3	8	1/21	+	4.4×10 ⁸	+	3.1×10 ⁷	-	+	+	死亡
4	9	1/23	+	3.0×10 ⁴	+	5.3×10 ³	+	-	+	治癒
5	2	1/25	+	7.0×10 ⁴	+	3.0×10 ⁴	-	-	-	治癒
6	2	2/10	+	3.3×10 ⁵	+	1.0×10 ⁴	+	-	-	死亡
7	9	2/10	+	1.9×10 ⁵	+	2.0×10 ⁴	-	-	-	治癒
8	8	2/12	+	1.5×10 ⁸	+	2.5×10 ⁵	-	-	-	死亡
9	3	8/17	+	1.0×10 ⁴	+	5.6×10 ⁴	-	-	-	治癒
10	33	8/17	-		-		-	-	-	治癒
11	14	8/30	-		+	8.0×10 ⁴	-	-	+	治癒
12	6	8/30	+	3.0×10 ³	+	2.0×10 ⁴	-	-	-	治癒
13	1	9/10	-		+	2.0×10 ⁴	-	-	+	治癒
14	1	9/10	-		-		-	-	-	死亡
15	4	9/13	-		+	9.0×10 ⁴	-	-	-	死亡
16	4	9/16	-		+	4.4×10 ³	-	-	+	死亡
17	2	9/28	-		-		-	-	-	治癒
18	22	9/28	-		-		-	-	-	治癒
19	7	9/28	-		-		-	-	-	治癒
20	1	9/28	-		-		-	-	-	治癒
21	0	9/28	-		-		-	-	-	治癒
22	7	10/19	-		+	1.2×10 ⁷	-	-	-	治癒
23	4	10/25	-		+	1.7×10 ⁵	+	-	-	治癒
24	10	10/26	-		+	3.5×10 ³	-	-	-	治癒
25	11	10/29	+	2.6×10 ⁴	+	2.0×10 ⁴	-	-	-	治癒
26	1	10/29	-		-		-	-	-	治癒
27	6	10/29	+	2.1×10 ³	-		+	-	-	治癒
28	3	11/13	-		+	1.3×10 ⁵	-	-	-	治癒
29	7	11/17	-		-		-	-	-	治癒
30	9	11/17	-		+	1.0×10 ⁴	-	-	+	治癒
31	7	11/23	+	1.9×10 ⁵	+	1.3×10 ³	+	-	-	治癒
32	7	11/24	+	1.0×10 ⁴	+	9.9×10 ⁶	-	-	+	死亡
33	6	11/26	+	2.9×10 ⁵	-		+	-	-	死亡

No.1~8は接種開始前, No.9~No.33は接種開始後, □数字は母牛からの初乳を摂取した個体

1) ロタウイルス 2) コロナウイルス 3) クリプトスポリジウム

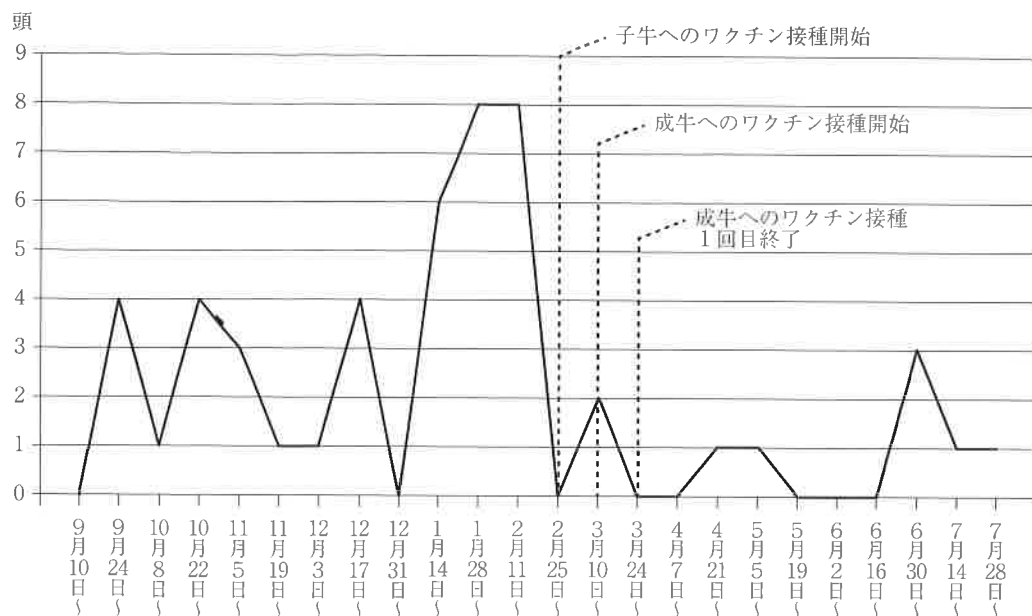


図2 ワクチン接種開始前後2週間毎の死亡数の推移

表2 ワクチン接種前後24週間の子牛の腸炎による死亡率

区 分	接種前24週間	接種後24週間
死亡率	32.8% (40/122頭)	6.9% (9/131頭)

前後で有意差あり (P<0.01)

成 績

1) 臨床効果

ワクチン接種開始前は死亡頭数が多く、特にワクチン接種開始直前では2週間毎に8頭ずつの子牛が死亡していたが、ワクチン接種開始後は死亡数が減少した(図2)。

子牛へのワクチン接種開始前24週間と開始後24週間の子牛の死亡率は、それぞれ32.8% (40/122) と6.9% (9/131) であり、接種開始後において有意な低値を示した(P<0.01)(表2)。月毎の治療率は、ワクチン接種開始前は子牛舎を消毒しても大きな変化がなかったのに対し、接種開始後に子牛舎を消毒した

後の平成27年5月と10月に低くなった(それぞれ45%、39%)。しかし、子牛舎の使用を続けた時期には治療率の上昇がみられた(図3)。生存群と死亡群のワクチン接種開始前後における治療開始日齢は、生存群においてワクチン接種開始前8.3±4.8日(n=108, 平均±標準偏差)から開始後6.7±4.0日(n=107)と有意に早まった(P<0.01)。また、治療回数では生存群、死亡群とも接種前後で有意な差は認められなかった(表3)。

2) 糞便検査成績(表1)

子牛の糞便からは、ワクチン接種開始前同様に *Salmonella* O4群をはじめとするさまざまな微生物が検出された。*Salmonella* O4群検出率は28.0%

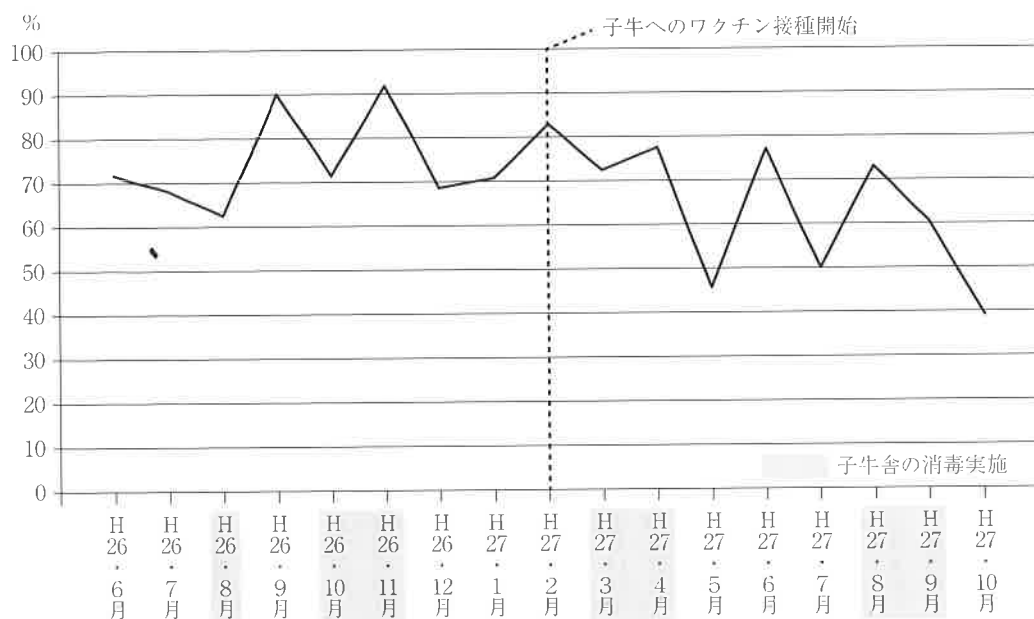


図3 腸炎の治療率

表3 治療開始日齢と治療回数
(ワクチン接種開始前H26年6月～H27年2月24日, 開始後H27年2月25日～H27年10月)

区分	治療	平均治療開始日齢	平均治療回数
生存群	開始前(n=108)	8.3±4.8a	6.3±3.3
	開始後(n=107)	6.7±4.0a	6.3±3.1
死亡群	開始前(n=49)	7.8±4.8	2.8±3.3
	開始後(n=15)	7.3±3.5	3.9±3.1

同文字間で有意差あり(P<0.01)

表4 子牛糞便由来 *Salmonella* O4 群および *Clostridium perfringens* の薬剤感受性

菌種	薬剤	MIC (μg/mL)												
		≤0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512≤
<i>Salmonella</i> O4群 (n=15)	ERFX	14			1									
	ABPC			3	1									11
	CEZ					6	9							
	KM ¹⁾					6	2							
	OTC ¹⁾								8					
<i>C. perfringens</i> (n=22)	ERFX		16				1		1		4			
	ABPC	22												
	CEZ	22												
	KM ¹⁾											7	1	
	OTC ¹⁾	6					1			1				

1) 供試株数は8株

(7/25)と低下し、検出菌数も $10^3 \sim 10^5$ CFU /mLと減少傾向を示した。接種開始前後に子牛の糞便から分離された*Salmonella* O4群(n=15) および*C. perfringens* (n=22)の薬剤感受性試験成績を表4に示した。*Salmonella* O4群のほとんどの株はERFXに対するMICが $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であり、ABPCに対しては $512 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を示す株が多かった。*C. perfringens*はABPCとCEZに対し、全ての株のMICが $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であった。なお、成牛の糞便からはサルモネラ属菌は分離されなかった。

以上、1)及び2)の成績について各項目とも子牛の初乳摂取状況(母牛由来または初乳製剤)との関連性はみられなかった。

考 察

本調査により、サルモネラ症による子牛の腸炎が多発した農場において、新生子牛に対するサルモネラ症不活化ワクチン接種による死亡率の低下が確認された。さらに糞便からの*Salmonella* O4群分離率が低下し、菌数も減少する傾向が認められた。以上の成績は、2週齢の子牛に対してサルモネラ生ワクチンを接種したところ、糞便中への排菌率が低下したというMizunoらの報告¹⁰⁾に加え、摂取した初乳の種類とは関連性がみられなかったことから、移行抗体の働きが主ではなく、子牛に対する不活化ワクチン接種の効果であると考えられた。

一般に、ワクチンは移行抗体存在下では接種効果が得られないとされる。また、中島ら¹¹⁾はサルモネラ属菌に対する移行抗体がない状態の子牛に、1週齢と4週齢の2回、サルモネラワクチンを接種しても、14週齢までには抗体価は上昇しなかったと報告している。したがって、今回実施した生後1日齢や3日齢での初回接種は、血中抗体価を上昇させる目的での接種時期としては全く推奨されていない。しかし、移行抗体によって抑制を受けるのはB細胞特異的であり、T細胞応答については阻害しない

と言われている^{12,13)}。また、サルモネラ属菌は経口感染後、腸管粘膜を通過しマクロファージに貪食され、その内部で生存し全身へ広がることが知られている^{14,15)}が、このような細胞内寄生細菌に対して防御を発揮するのは抗体ではなく、T細胞による細胞性免疫やマクロファージの活性化であり¹⁶⁻¹⁸⁾、実際に細胞性免疫不全の状態ではサルモネラ症が重症化すると報告されている¹⁹⁾。不活化ワクチンは生体の細胞性免疫を刺激しないとされる^{16,20)}が、これまでの知見に今回の成績を合わせて考えると、今回実施した生後間もない子牛に対するサルモネラ症不活化ワクチン接種は、細胞性免疫に何らかの影響を与えた可能性がある。*Salmonella* O4群は薬剤感受性試験でERFXに高い感受性を示し、同薬剤を第一選択としても使用したが、菌数が 10^6 CFU/mL以上を示した全ての症例は死亡した。このことから、*Salmonella* O4群が濃厚感染した場合には、抗菌剤治療は十分な臨床効果を示さない可能性が高いと考えられた。また、ワクチン接種開始後の治療開始日齢は開始前に比べ早まったが、子牛腸炎の診断基準や治療方針に変更はなく、この原因を明らかにすることはできなかった。

サルモネラ属菌に汚染された農場の清浄化に関しては、飼養環境中の除菌が不可欠であると言われている^{1,2,4,6,8)}。今回の調査でも、子牛をオールアウトし消毒を実施した直後は治療率が低下したが、その後、飼養を継続することによって治療率は再び上昇した。このことから、継続的な除菌作業が不可欠であることが再確認された。

以上の成績から、サルモネラ症対策の基本は除菌、発症牛に対する適切な抗菌剤治療および生菌製剤の投与であるが、これにワクチン接種を加えることにより被害を低減できることが示唆された。ワクチン接種時期については、今回は発症時期に合わせて初回を1日齢または3日齢としたが、今後十分な検討が必要である。

引用文献

- 1) 内田郁夫：牛のサルモネラ症，牛病学第三版，明石博臣編，262-264，近代出版，東京(2013)
- 2) 中岡祐司：北海道における牛サルモネラ症の現状と対策，臨床獣医18(4)，36-45(2000)
- 3) 永井英貴：牛用ワクチンの概説 5 牛サルモネラ症ワクチン，日獣会誌，63，665-669(2010)
- 4) 中村政幸：牛のサルモネラ症～子牛から搾乳牛へ～，臨床獣医，30(2)，10-14(2012)
- 5) 矢田谷健：サルモネラ人工感染子牛に対する生菌微生物飼料添加物の投与効果・2，臨床獣医，15(7)，67-73(1997)
- 6) 矢田谷健：牛サルモネラ症における生菌剤の有効性について，臨床獣医，30(2)，21-25(2012)
- 7) 瀬川潤：*Salmonella* Typhmuriumによる牛のサルモネラ症発生農場における清浄化事例，家畜診療，62，477-483(2015)
- 8) 部屋智子，日高英子：フリーバーン農場におけるサルモネラ症対策，広島県獣医学会雑誌，24，35-39(2009)
- 9) 耐性菌問題検討委員会：動物用抗菌剤耐性菌の公衆衛生に及ぼす影響の検討事業の報告 1，薬剤耐性菌の実態についての文献調査，動物抗菌会報，23，29-39(2001)
- 10) Mizuno T, McLennan M, Trott D : Intramuscular vaccination of young calves with a *Salmonella* Dublin metabolic-drift mutant provides superior protection to oral delivery, Vet Res, 39, 26-42(2008)
- 11) 中島直人，稲村充昭：子牛サルモネラ症予防に対するワクチン効果，帯畜大別科研報，15，8-9(2001)
- 12) Tizard IR：胎子および新生子における免疫，イラストでみる獣医免疫学—免疫疾患の仕組みから治療まで—第7版，古澤修一ら訳，211-222，インターズー，東京(2011)
- 13) Endsley JJ, Roth JA, Ridpath J, et al. : Maternal antibody blocks humoral but not T cell response to BVDV, Biologicals, 31, 123-125(2003)
- 14) 江崎孝行：病原体の感染機構，標準感染症学第二版，斎藤厚ら編，14-18，医学書院，東京(2008)
- 15) 小坂健：サルモネラ腸炎，小児科診療，7，1013-1017(2001)
- 16) Tizard IR：T細胞の機能と細胞への侵入生物の破壊，イラストでみる獣医免疫学—免疫疾患の仕組みから治療まで—第7版，古澤修一ら訳，188-210，インターズー，東京(2011)
- 17) Tizard IR：細菌およびその関連物質に対する獲得免疫，イラストでみる獣医免疫学—免疫疾患の仕組みから治療まで—第7版，古澤修一ら訳，259-266，インターズー，東京(2011)
- 18) 山内一也：免疫の概説，動物の免疫学第二版，小沼操ら編，2-7，文永堂出版，東京(2001)
- 19) 野々山恵章：免疫不全，病態のしくみがわかる免疫学，関修司ら編，193-197，医学書院，東京(2010)
- 20) 本川賢司：ワクチン免疫の基礎と臨床—ワクチン効果を上げるもの下げるもの—，日家畜臨感染症研究会誌，4，39-47(2009)

Effects of vaccination in newborn calves at dairy farm with high calf fatalities due to salmonellosis

Yoshiyuki Tsuchiya, Tamaki Uyama, Takumi Yabuta,
Shimpei Miura, Toshihide Kato

Okitama Veterinary Clinic Yamagata P.F.A.M.A.A

(3668-3 Yanome, Kubota-machi, Yonezawa-shi, Yamagata 992-0002)

SUMMARY

Newborn calves at a large-scale dairy farm in the jurisdictional area were given inactivated vaccine shots because of the high fatality of calves with enteritis caused by the O4 group of *Salmonella*. The vaccine was given to calves on the next day of birth or at 3 days of age, and again at 3 weeks after the first shot. The fatality rate significantly dropped from 32.8% (40/122) at 24 weeks before vaccination to 6.9% (9/131) at 24 weeks after vaccination ($P < 0.01$). The monthly treatment rate (percentage of treated calves in newborn calves, calculated monthly) was found to drop immediately after thorough disinfection. In general, vaccination is considered bad for young calves because they have high blood maternal antibody titer. However, given that clinical effectiveness of vaccination immediately after birth for salmonellosis in calves was obtained, it suggests that *salmonella* vaccine has some kind of effect on the immunity of calves.

【Keywords: calves, early stage vaccination, inactivated vaccine, *Salmonella* O4, salmonellosis】

J Livestock Med, 63, 339-347 (2016)

第29回 世界牛病学会

- ◇ 期 日 ◇ 2016年7月3日～8日
- ◇ 場 所 ◇ ダブリンコンベンションセンター ダブリン, アイルランド
- ◇ 主なテーマ ◇ 肉牛, 乳牛, 小反芻獣の内科および外科, 栄養, 生殖, 治療, 行動学, その他関連する事項, 寄生虫病, 蹄病, 疫学と家畜衛生, 細菌・ウィルス感染症, 乳房の衛生, 免疫, 牛の福祉, 画像診断, eラーニングと卒後教育, ラクダ科動物, 公衆衛生と食品の安全, 他
- ◇ 一般講演・ポスター発表の演題募集 ◇ 英語で2,500字以内, 受付期間2015年5月～12月, 詳細は学会ウェブサイト参照
- ◇ 学会ウェブサイト ◇ <http://www.wbc2016.com>
- ◇ 国内連絡先 ◇ 世界牛病学会理事, 酪農学園大学 田島誉士 motoshi@rakuno.ac.jp