業績ノート

腸管出血性大腸菌O26保菌牛を認めた「ふれあい動物実施農場」における衛生指導の一事例

鹿沼憲一[1)]，塩原綾早[2)]，大関貴大，中村健太郎，
矢田絢子[2)]，竹田百合子[2)]，髙橋幸治[2)]

宮城県北部家畜保健衛生所
１）宮城県北部地方振興事務所栗原地域事務所畜産振興部
２）宮城県仙台家畜保健衛生所

１　はじめに

動物由来感染症とは，人獣共通感染症を人の健康問題という観点に立って言い表した言葉であり，平成８年に全国的な流行のあった腸管出血性大腸菌O157（以下，O157）などもこれに含まれる．搾乳体験等のふれあい動物イベントを含む動物展示施設における動物から人への感染事例は，平成13年の島根県における発生以降，全国で散発的に確認され，集団感染の事例も報告されている[1,2)]．

動物由来感染症の感染防止対策としては，①宿主動物対策②伝播対策③侵入阻止対策の３原則が挙げられ[3)]，厚生労働省では『動物由来感染症ハンドブック』を作成し，感染防止を啓発している．また，宮城県では平成16年以降，『ふれあい牧場衛生管理向上マニュアル』に準拠し，搾乳体験に供する予定の乳用牛には事前衛生検査を実施し，病原体が確認された牛は，伝播対策として供与の中止を指導するとともに，宿主動物対策として飼養農場への衛生指導を実施している．

今回，ふれあい動物イベントへ乳用子牛を供与している農場で，２年連続で動物由来感染症の病原体の一つである腸管出血性大腸菌O26（以下，O26）が検出されたので，分離されたO26の性状を比較するとともに，衛生指導を実施した．

２　材料と方法

⑴　農場概要

当該農場は乳用牛18頭，肉用牛９頭の合計27頭を飼養する乳肉複合農場であった．牛舎は乳用牛舎，乳用牛育成舎及び肉用牛舎の３棟で，乳用牛育成舎と肉用牛舎にはパドックが併設されていた．

⑵　材料

①　事前衛生検査

ふれあい動物イベント供与予定牛について，平成30年度５頭，令和元年度６頭の合計11頭の直腸便を検査に供した．なお，検査対象牛の月齢は，平成30年度１-２ヶ月齢，令和元年度３-４ヶ月齢である．

②　浸潤状況確認検査及び環境検査

令和元年度に農場全頭のO26浸潤状況確認検査及び環境検査として，乳用牛12頭，肉用牛９頭の合計21頭の直腸便，パドック内の土壌５検体，及び牛房の床，壁面，牛床マット，ウォーターカップの拭き取り液４検体を検査に供した．

③　性状検査

①及び②の検査にて分離された菌株（O26）８検体を用いた．

⑶　方法

①　事前衛生検査

腸管出血性大腸菌（O157・O26）は，免疫磁気ビーズ法を用い，菌分離後，O群血清型別により同定し

た．サルモネラ属菌は，HTT培地による選択的増菌後，DHL寒天培地及びESサルモネラ寒天培地Ⅱによる分離培養を実施した．クリプトスポリジウムは，ストリップテスト（DipFit Cryptosporidiumsp，コスモ・バイオ社）によって定量検出した．

②　浸潤状況確認検査及び環境検査

O26の分離及び同定は,事前衛生検査と同様の方法で実施した．

③　性状検査

分離された菌株は，病原因子（毒素（*stx1*，*stx2*）及び付着因子（*eae*））をPCR法によって検索した．薬剤感受性試験は，一濃度ディスク法によって12薬剤（ABPC，AMPC，CEZ，CL，KM，GM，OTC，TC，NA, ERFX, ST, CP）について実施した．

3　結　果

①　事前衛生検査

O26は平成30年度で５頭中３頭（乳用牛１～３），令和元年度で６頭中２頭（乳用牛A，B）から分離された．令和元年度のO26保菌牛の配置は**図１**となった。O157，サルモネラ属菌及びクリプトスポリジウムは全頭で検出されなかった．

②　浸潤状況確認検査及び環境検査

O26は，21頭中２頭（乳用牛C，肉用牛D)，環境検査９検体中土壌１検体（乳用牛育成舎併設のパドック（パドックE)）から分離された．**（図１）**

③　性状検査

O26の病原因子として，平成30年度分離株は*stx1*，*stx2*，*eae*を，令和元年度分離株は*eae*を保有していた**（表１）**．

薬剤感受性試験では，平成30年度分離株は12薬剤の全てで感受性を示した．令和元年度では，乳用牛A・B分離株はABPC, AMPC, CEZ, CL, OTCの５薬剤に，肉用牛D分離株はOTCに，乳用牛C及びパドックE分離株はABPC, AMPC, CEZ, OTCの４薬剤に耐性が認められた**（表２）**．

表１　O26病原因子検査

	検体	採材時月齢	毒素		付着因子
			stx1	*stx2*	*eae*
H30	乳用牛1	2	+	+	+
	乳用牛2	1	+	−	+
	乳用牛3	1	+	−	+
R1	乳用牛A	4	−	−	+
	乳用牛B	3	−	−	+
	乳用牛C	48	−	−	+
	肉用牛D	3	−	−	+
	パドックE	-	−	−	+

eae：インチミン遺伝子，*stx1*：志賀毒素遺伝子1，*stx2*：志賀毒素遺伝子2

※　インチミン（腸粘膜定着因子）
菌が腸管上皮細胞へ付着する際に必要な菌体表面にあるタンパク質。

表２　O26薬剤感受性検査

	検体	採材時月齢	ペニシリン系		セフェム系	ポリペプチド系	テトラサイクリン系	その他	耐性数
			ABPC	AMPC	CEZ	CL	OTC		
H30	乳用牛1	2	S	S	S	S	S	S	なし
	乳用牛2	1	S	S	S	S	S	S	なし
	乳用牛3	1	S	S	S	S	S	S	なし
R1	乳用牛A	4	R	R	R	R	R	S	5
	乳用牛B	3	R	R	R	R	R	S	5
	乳用牛C	48	R	R	R	S	R	S	4
	肉用牛D	3	S	S	S	S	R	S	1
	パドックE	-	R	R	R	S	R	S	4

感受性：S，耐性：R

ABPC：アンピシリン，AMPC：アモキシシリン，CEZ：セファゾリン，CL：コリスチン，OTC：オキシテトラサイクリン

〔その他〕
KM：カナマイシン，GM：ゲンタマイシン，TC：テトラサイクリン（H30のみ），ST合剤，NA：ナジリクス酸（H30のみ），ERFX：エンフロキサシン，CP：クロラムフェニコール（H30のみ）

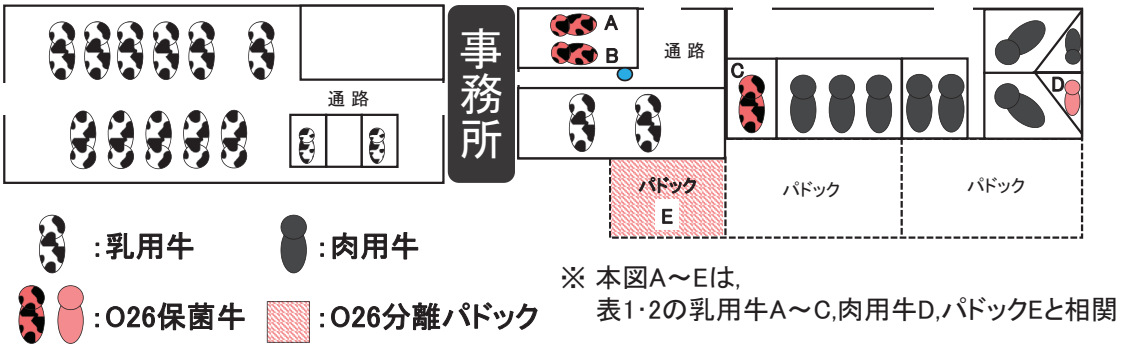

図１　農場配置図及びO26保菌牛（R１年度）の飼養場所

４　まとめと考察

ふれあい動物イベントへの供与予定の乳用子牛で腸管出血性大腸菌O26が２年続けて計５頭確認されたため，令和元年度に農場全頭の浸潤状況確認検査及び環境検査を実施したところ，農場内に他２頭の保菌牛を認め，パドックの土壌からもO26が分離され，牛と環境間での菌の循環が疑われた．

分離された菌株の性状は，保有病原因子や薬剤耐性の観点から多様であった．今回の検査では，農場への侵入経路や多剤耐性獲得の原因を特定するには至らなかったが，O26は人や野生動物，衛生害虫，飼料・水など，様々なものに付着し農場に持ち込まれる[4]．また，プラスミドを介した病原遺伝子の獲得による強毒化の可能性もある．このことから，動物由来感染症防止の３原則に基づく以下の対策を講じた．

①　宿主動物対策：保菌牛には，薬剤耐性を考慮し，生菌剤の投与による競合的排除を選択した．また，適切な農場消毒のみでも牛における腸管出血性大腸菌の陽性率低下に有効とする過去の報告[5]を参考に，牛舎やパドック等の飼養環境の消石灰による消毒を実施した．

②　伝播対策：保菌牛の飼育管理体制を見直した他，搾乳作業前後の手指消毒等について，リーフレット等を活用した実践指導を行った．

③　侵入防止対策：農場の飼養衛生管理基準の遵守状況を確認の上，畜舎の出入口での長靴消毒の励行等，基本的な飼養管理の再徹底を指導した．

搾乳体験等のふれあい牧場でのイベントは，畜産物の消費拡大や動物愛護等の命の大切さを教育するため，全国的に開催されており，供与牛が不特定多数のイベント来場者と接触する機会がある．イベント開催前に供与牛の衛生検査を実施することは，供与牛を介した動物由来感染症の感染防止対策として重要であり，事前衛生検査の継続の必要性を再確認した．

また，動物由来感染症の特徴として，動物は症状を示さない病原体が少なくない（不顕性感染が多い）[6]とされている．牛群の中に保菌牛がいる場合，水平感染や環境汚染により拡大するばかりでなく，農場従事者への感染リスクが高くなり，農場従事者内での動物由来感染症の発生に至る可能性もある[7]．今回のようにイベント供与家畜の事前衛生検査の機会を活用し，農場での衛生対策を検討・実施することは，農場の管理者や従事者の衛生意識，知識及び管理技術の向上による動物由来感染症の発生防止に有効であると考える．また，動物由来感染症防止の３原則の内容は飼養衛生管理基準と共通しており，これに基づく対策を実施したことは，家畜伝染病の発生予防にも有効であると考える．

参考文献

１）鳥展示施設に関連したオウム病集団発生事例－島根県松江市，IASR Vol.23 No.10 October 2002

２）牧場での「ふれあい体験」が感染源と示唆される腸管出血性大腸菌O157感染事例，青森県環境保健センター，2016

３）動物由来感染症対策の３原則，IASR Vol.26 No. 8（No.306）August 2005

４）牛肉の生産衛生管理ハンドブック第２版，１-23，農林水産省，東京，2013

５）牛における腸管出血性大腸菌O157の動態と低減技術，北海道畜産試験場，2003

６）動物由来感染症対策において診療獣医師に求められること，日本獣医師会雑誌，2002

７）牧場体験した高校生のクリプトスポリジウム症集団発生事例－千葉県，IASR Vol.26 No. 7 July 2005