

令和3年度 成績概要書

課題コード（研究区分）：3101-214501（経常（一般）研究）

1. 研究課題名と成果の要約

- 1) 研究成果名：乳牛におけるルーメン発酵状態がサルモネラ排菌に及ぼす影響
（研究課題名：サルモネラ持続排菌牛のルーメン発酵改善による排菌低減効果）
- 2) キーワード：サルモネラ排菌、潜在性ルーメンアシドーシス、ルーメン、糞便
- 3) 成果の要約：乳牛におけるサルモネラ経口接種試験によって、ルーメン発酵正常時より潜在性ルーメンアシドーシスで生じるルーメン発酵異常状態では糞便中排菌量が多くなる危険性が示された。牛サルモネラ症発生農場では、飼料設計の見直し等によるルーメン発酵正常化が対策として有効である。

2. 研究機関名

- 1) 代表機関・部・グループ・役職・担当者名：畜試・畜産研究部・家畜衛生G・主査 櫻井 由絵
- 2) 共同研究機関（協力機関）：（酪農試・酪農研究部・乳牛G、畜試・畜産研究部・飼料生産技術G、家畜保健衛生所、NOSAI、農業改良普及センター、ホクレン訓子府実証農場、岩手大学）

3. 研究期間：平成30～令和2年度（2018～2020年度）

4. 研究概要

1) 研究の背景

牛サルモネラ症は持続排菌牛による清浄化対策長期化が問題となっている。発生農場では、ルーメン発酵異常の指標となる乳成分値低下が認められる場合があり、通常対策だけでは保菌率が低下しない時に追加対策として飼料設計を変更し、清浄化を達成した報告がある。しかし、持続排菌牛となる要因は解明されていないことから、給与飼料の影響によるルーメン発酵状態と持続排菌の関連性解明が求められている。

2) 研究の目的

持続排菌牛の要因の一つと考えられるルーメン発酵異常に着目し、給与飼料の構成および変更によるルーメン発酵状態の違いが糞便中へのサルモネラ排菌に及ぼす影響を明らかにする。

5. 研究内容

1) 採取ルーメン内容液中におけるサルモネラ増殖性（H30～R2年度）

- ・ねらい：ルーメン発酵状態の異なる乳牛から採取したルーメン内容液中のサルモネラ増殖性を明らかにする。
- ・試験牛：現地酪農場乳牛28頭、場内試験牛（ルーメンフィステル乾乳牛）8頭（濃厚飼料多給区のみ2反復）
- ・場内試験牛の試験区：【適正区】ルーメン発酵正常（ルーメン内 pH6.0-7.0維持）、泌乳初期想定適正 TMR（デンブ 23%、NFC35%、NDF40%、粗濃比 5:5）給与（経口接種後 4週）→乾草給与（2週）
【濃厚飼料多給区】潜在性ルーメンアシドーシス再現（ルーメン内 pH5.8以下3時間以上/日、図1）、濃厚飼料多給 TMR（デンブ 40%、NFC51%、NDF26%、粗濃比 2:8）給与（経口接種後 2週）→適正 TMR 給与（2週）→乾草給与（2週）
【給与量不足区】発酵不足再現、給与量不足 TMR（適正区と同様の飼料構成で乾物給与量 5~6割減）給与（経口接種後 2週）→適正 TMR 給与（2週）→乾草給与（2週）
- ・試験項目等：ルーメン内容液性状分析（pH等）およびサルモネラ菌液（Typhimurium, 04:i:-, Dublin, Muenster, Tennessee）添加によるルーメン内容液中の増殖性試験（37℃、一晚静置培養前後の菌数測定）

2) 給与飼料によるルーメン発酵状態の違いがサルモネラ保菌に及ぼす影響（H30～R2年度）

- ・ねらい：ルーメン発酵状態の違いが経口接種によるサルモネラのルーメン内増殖性、糞便中排菌に及ぼす影響について明らかにする。
- ・試験項目等：試験牛および試験区は1)場内試験牛と同じ、ルーメン内 pH測定、サルモネラ菌液（*S. Tennessee* 10⁸CFU/ml×100ml）経口接種後のルーメン内容液と糞便中サルモネラ検出（増菌培養、直接塗抹等）

3) 現地酪農場における持続排菌牛の調査（R2年度）

- ・ねらい：届出対象外血清型により発生した持続排菌牛（1戸5頭）の特徴を明らかにする。
- ・試験項目等：サルモネラ検出（ルーメン内容液、糞便等）、飼養管理聞き取り調査、発生状況調査

6. 研究成果

- 1) 現地酪農場乳牛および場内試験牛32頭（延べ頭数）より採取したルーメン内容液 pHは5.0-8.0および5.8-7.3で、サルモネラ菌液添加による増殖性は pH値上昇に伴い高くなる傾向が認められたが、揮発性脂肪酸組成との関連は見られなかった。また、血清型による増殖性の違いは認められなかった（データ省略）。
- 2) - (1) 接種菌量と接種後検出菌量の減少から、ルーメン内においてサルモネラは増殖していないと考えられた。接種後3時間のルーメン内容液中菌数（塗抹培養結果による菌数計測、logCFU/ml）は適正区で平均 3.2±0.49、濃厚飼料多給区で平均 3.1±1.38、給与量不足区で平均 3.9±0.52であり、給与量不足区では有意に検出菌数が多い（ $p<0.05$ ）、ルーメン内生残性が高かった。その後も、給与量不足区ではサルモネラ検出率が高い傾向が見られ、全試験区において間欠的な検出が認められた（図2）。
- 2) - (2) 接種後1日目の糞便中排菌数（塗抹培養結果により菌数計測、logCFU/g）は適正区で平均 0.6±1.07、濃厚飼料多給区で平均 2.5±1.34、給与量不足区では平均 1.3±1.53であり、適正区に比べて濃厚飼料多給区で有意に多かった（ $p<0.01$ 、図3）。接種後2~14日目（各試験区 TMR 給与期間）の検出率（平均）は適正区 17%、濃厚飼料多給区 41%、給与量不足区 28%で濃厚飼料多給区が高い傾向だった（図4）。以上より、ルーメン発酵状態の違いが糞便中の排菌状況にも影響を及ぼしており、潜在性ルーメンアシドーシス状態の牛がサルモネラ保菌した場合には、排菌量が多くなる可能性があると考えられた。また、ルーメン内容液と糞便中の検出状況は合致していないことから、消化管通過速度や下部消化管におけるサルモネラの動態が糞便中排菌に大きく影響していると考えられた。
- 3) 現地酪農場持続排菌牛のルーメン内容液からサルモネラは検出されず、4/5頭の糞便では 3.5-5.9logCFU/g 検出されたことから、持続排菌牛ではルーメンより腸管内で増殖している可能性が大きいと考えられた。

<具体的データ>

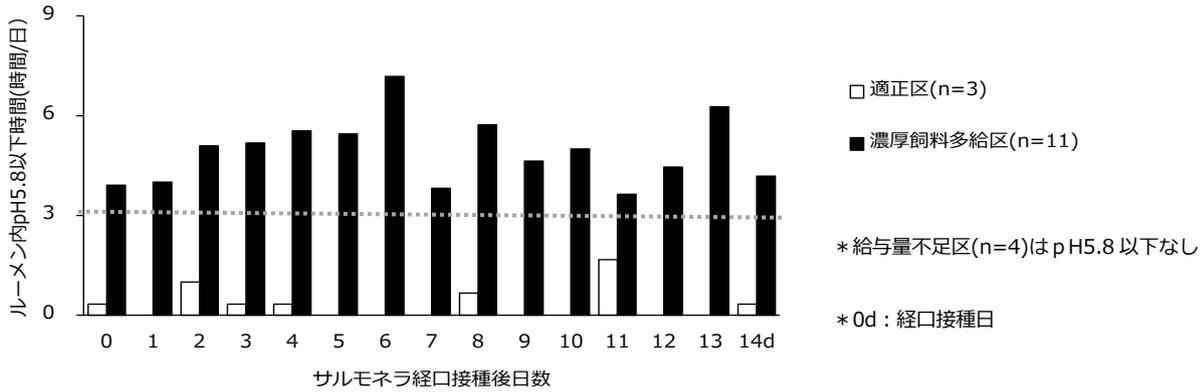


図1 各試験区のルーメン内 pH5.8 以下を示した時間 (時間/日)

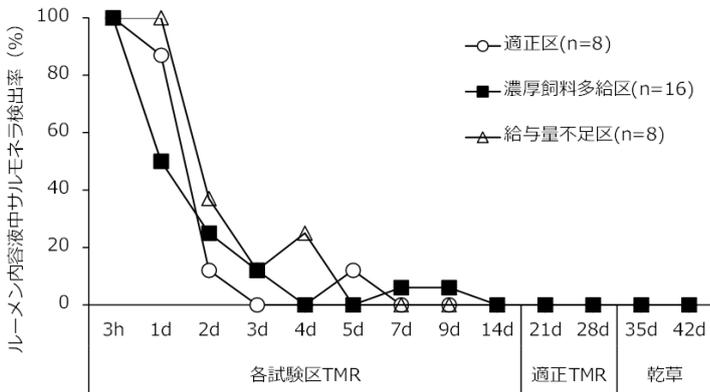


図2 サルモネラ経口接種後のルーメン内容液中サルモネラ検出率の推移

* 適正区の 2, 5d 検出は同一個体、濃厚飼料多給区の 7, 9d 検出は別個体

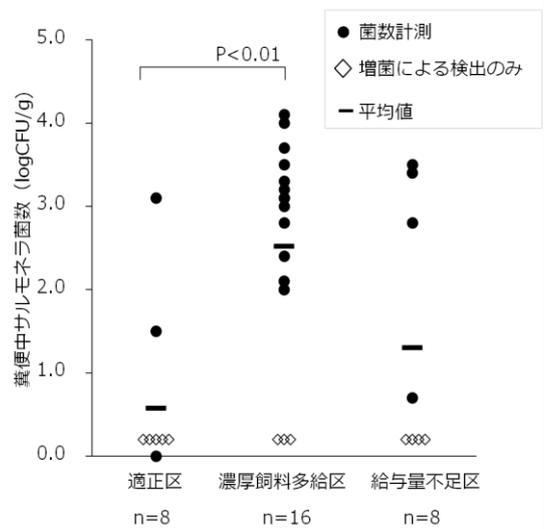


図3 サルモネラ経口接種後1日目の糞便中排菌数

* 菌数計測はノボピオシン加 DHL (n-DHL) 寒天培地に10倍階段希釈した培養液 100μl 塗抹によるコロニー数計測。

* 増菌による検出は選択増菌(ラポポートバシリアデイス培地)後の分離培養 (n-DHL 寒天培地) によるコロニー形成の有無で判断。塗抹培養結果は陰性。

* 平均値は菌数計測のための塗抹培養結果より算出。

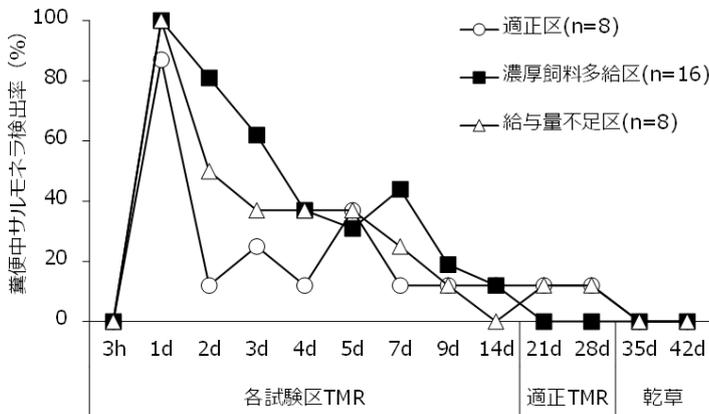


図4 サルモネラ経口接種後の糞便中検出率の推移

* 適正区の 2~28d 検出は同一個体、給与量不足区の 21, 28d 検出も同一個体

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

獣医師および畜産関係者が牛サルモネラ症発生農場で清浄化対策の1つとして、飼料設計等を見直す際の知見として活用される。

2) 残された問題とその対応

サルモネラ持続排菌牛となる要因を解明するためには、ルーメンだけではなく腸管内動態等も踏まえた研究が必要である。

8. 研究成果の発表等 なし