

一農場で発生した乳牛の *Salmonella Saintpaul*感染事例

水戸 康明¹⁾ 富永 由香¹⁾ 坂部 吉彦²⁾

NOSAI 岡山 家畜課
NOSAI 岡山 西部家畜診療所¹⁾
岡山県高梁家畜保健衛生所²⁾

(〒700-8602 岡山県岡山市北区桑田町1番30号)

(E-mail: mito_y@ok-nosai.or.jp)

要 約

牛のサルモネラ症は、*Salmonella*属菌によって引き起こされ、下痢・全身性炎症性症候群を主徴とする感染症である。成乳牛31頭、育成牛7頭を飼養する1酪農場において、2014年9月29日から約1ヶ月間の間に6頭の牛が食欲不振、発熱を呈し、うち2頭に悪臭や出血便を伴わない軽度下痢が見られたことから、発症牛および同居牛8頭の糞便検査を行った。その結果、*Salmonella Saintpaul* (*S. Saintpaul*) が分離された。10月30日に実施した発症牛を含む全頭糞便検査で、31頭中20頭(64.5%)がサルモネラ属菌保菌陽性であった。対策として、分離サルモネラ菌に感受性を持つ抗菌剤の全頭投与、生菌剤の継続投与、牛舎消毒を実施したところ、11月20日には33頭中2頭(6.1%)のみの陽性となり、発熱や食欲不振を示す牛は見られなかった。サルモネラ症は様々な症状を呈するので、感染症を疑う症例には、細菌分離および分離菌の抗菌剤に対する感受性を調べる等の検査の必要があると考えられた。

【キーワード】: サルモネラ症、下痢症、*Salmonella Saintpaul*、培養時間】

..... 家畜診療, 64, 23-30(2017)

牛のサルモネラ症は、サルモネラ属*Salmonella* (*S.*) 菌により引き起こされる感染症で、血清型は約2,500種に区別されるが、そのなかでも*S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Enteritidis*は届出伝染病に指定されている。従来は子牛における発生が報告されていたが、1990年以降、搾乳牛で発生報告が増加している^{1, 2)}。一旦、農場内へ侵入すると清浄化には多大な労力と経済的負担が強いられる。症状は発熱や悪臭のある

黄色下痢、粘血便が特徴的であり、重症であれば起立不能、死に至る場合もある^{1, 3)}。今回、一酪農場において*S. Saintpaul*感染事例に遭遇したので概要を報告する。

材料および方法

発生農場の概要

発生農場は、成乳牛31頭、育成牛7頭のホルスタ

表1 発症牛の概要

個体番号	6753	6718	6745	9115	3139	1015
初診月日	2014/9/29	2014/10/6	2014/10/6	2014/10/20	2014/10/24	2014/10/27
生年月日	2012/7/7	2010/9/1	2012/1/5	2005/12/17	2002/10/25	2013/3/24
最終分娩	2014/5/26	2014/9/28	2013/12/7	2014/10/2	2014/8/25	2014/2/13
分娩後日数	126	8	303	18	60	256
診療回数	6	7	10	14	9	16
初診時体温	42.0°C	41.0°C	40.5°C	41.2°C	39.4°C	40.2°C
糞便状態	正常	正常	泥状下痢	泥状下痢	正常	正常
臨床症状	食欲不振	食欲不振	食欲不振 10/10 流産	食欲不振	食欲不振	食欲不振

イン種を飼養し、育成牛は自家生産していた。搾乳牛は対戻式のタイストールで、育成牛および乾乳牛は、搾乳牛舎隣の運動場およびマスで飼養していた。発生の約11カ月前に、近隣の廃業した酪農家から3頭成乳牛の導入があった。なお、全ての飼育牛に対してサルモネラワクチンは未接種であった。

給与飼料は、配合飼料、ビール粕、スーダン乾草およびハイキューブのほか、自家製の稻わら、イタリアンサイレージおよびコーンサイレージであった。

検査材料

発症牛および同居牛について、直腸便および鼻腔スワブを採材した。また、環境中検査では、飼槽、水槽、牛床について滅菌生理食塩水に浸したスワブでふき取り、検査に供した。

ウイルス学的検査

コロナウイルスは、明石らのプライマー (BCV-P 1 : 5' GGC CTA ACA TAC ATC CTT CC 3', BCV-P 2 : 5' ACC ACC AGT TCT TGA TGT GG 3') を用い、牛ウイルス性下痢 (BVD) ウィルスは Vilcek ら⁴⁾ のプライマーを用い、糞便材料にて RT-PCR を実施した。ロタウイルスは、糞便材料を用いてロタウイルス A 群抗原検出キット (イムノカード ST ロタウイルス、富士レビオ株式会社)、RS ウィルスは、鼻腔スワブを用いて、抗原検出キット (BD RSV エグザマン、日本ベクトン・ディッキン

ソン株式会社) を用いて検査した。

原虫・寄生虫検査

糞便材料を用いて、コクシジウムは McMaster 法、肝蛭は実体顕微鏡による肝蛭卵検査を実施した。

サルモネラ属菌の分離

サルモネラは、10月 8 日 (個体番号 : 6753, 6718, 6745, 6900, 9617) と 20 日 (個体番号 : 9115) に採材した直腸便をハーナーテトラチオン培地 (HTT 培地) にて 24 時間増菌培養した後、DHL 寒天培地にて分離培養を行った。10月 27 日 (個体番号 : 1015, 1212) に採材した直腸便は HTT 培地で 60 時間培養した後、ノボビオシン添加 DHL (N-DHL) 培地にて分離培養を行った。全頭糞便検査および環境中検査は、HTT 培地で 48 時間増菌培養した後、DHL 培地にて分離培養を行い O 多価血清 (サルモネラ免疫血清「生研」、デンカ生研株式会社) にて凝集を示したものを作成した。

サルモネラ属菌の同定

分離されたサルモネラ属菌は O 抗血清および H 抗血清 (サルモネラ免疫血清「生研」、デンカ生研株式会社) を用い血清型別を実施した。

サルモネラ属菌の薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は薬剤ディスク (BD センシディスク、日本ベクトン・ディッキンソン社) を用いて、1 濃度ディスク法にて実施した。

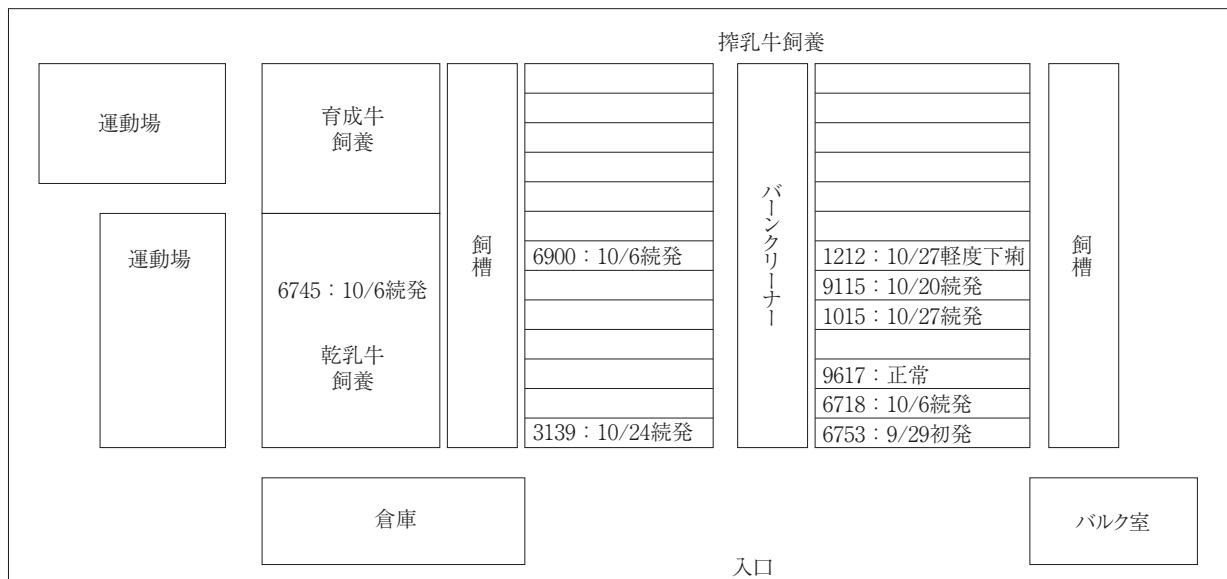


図1 牛舎図および発生状況

成 績

臨床経過

平成26年9月29日(個体番号: 6753)に食欲不振の稟告にて求診があった。初診時体温42.0℃、糞便に異常は見られず、アンピシリンNaとクロキサシンの合剤(ABPC・MCIPC)を3日間投与したところ、体温、食欲とも正常に回復したため経過観察とした。その後、10月6日に2頭(個体番号: 6745, 6718)、10月20日に1頭(個体番号: 9115)、10月24日に1頭(個体番号: 3139)、10月27日に1頭(個体番号: 1015)と同様の症状を呈する牛が散発的に発生した。全ての牛で食欲不振がみられ、ほとんどの牛は40℃以上の高熱を呈したが、下痢の症状は軽く、泥状下痢を呈する牛は2頭(個体番号: 6745, 9115)に留まり、悪臭や血便は見られなかった(表1, 図1)。

個体番号6745および6718は、初診時(10月6日)セファゾリンNa(CEZ)を投与し、2診目にABPC・MCIPCを投与した。しかし、40℃以上の発熱が継続したため、3診目よりダノフロキサシン(DNFX)を2日間投与したところ食欲改善が見られたため、経過観察とした。個体番号9115は、初診時(10月20日)ABPC・MCIPCを投与したが40℃以上の発熱が継続したため、2診目よりエンロフロキサシン

(ERFX)を3日間投与したところ解熱したため経過観察とした。個体番号3139は10月24日から、CEZを2日間投与し、食欲活力改善したため経過観察とした。個体番号1015は10月27日からCEZを3日間投与し、食欲活力改善したため経過観察とした。

ウイルス検査成績

10月8日に採材した5頭のうち、RSウイルスは1頭が陽性、コロナウイルス、BVDウイルスは全例陰性であった。10月20日採材の1頭はロタウイルス陰性であった。10月27日採材の2頭でBVDウイルスは全例陰性であった(表2)。

細菌検査成績

サルモネラは、10月8日および20日採材の6頭(個体番号: 6753, 6718, 6745, 6900, 9617, 9115)は全例陰性であったが、10月27日採材の2頭(個体番号: 1015, 1212)で陽性であった(表2)。分離されたサルモネラ属菌は血清型別により*S. Saintpaul*に分類された。分離されたサルモネラ菌の薬剤感受性試験において、ペニシリンに対し耐性であったが、カナマイシン、セファゾリン、オルビフロキサシン、マルボフロキサシン、エンロフロキサシンには感受性であった。

10月30日採材の直腸便を用いて糞便検査を実施した結果、全31頭中20頭(64.5%)がサルモネラ属菌陽

表2 病原体検出検査結果

個体番号	6753	6718	6745	6900	9617	9115	1015	1212
サルモネラ	-	-	-	-	-	-	+	+
RSウイルス	-	-	-	+	-	NT	NT	NT
コロナウイルス	-	-	-	-	-	NT	NT	NT
ロタウイルス	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT
コクシジウム	NT	NT	NT	NT	NT	-	-	-
BVD	-	-	-	-	NT	NT	-	-
肝蛭	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-

6753, 6718, 6745, 6900, 9617 : 10/8 採材

1015, 1212 : 10/27 採材

9115 : 10/20 採材

NT : not test

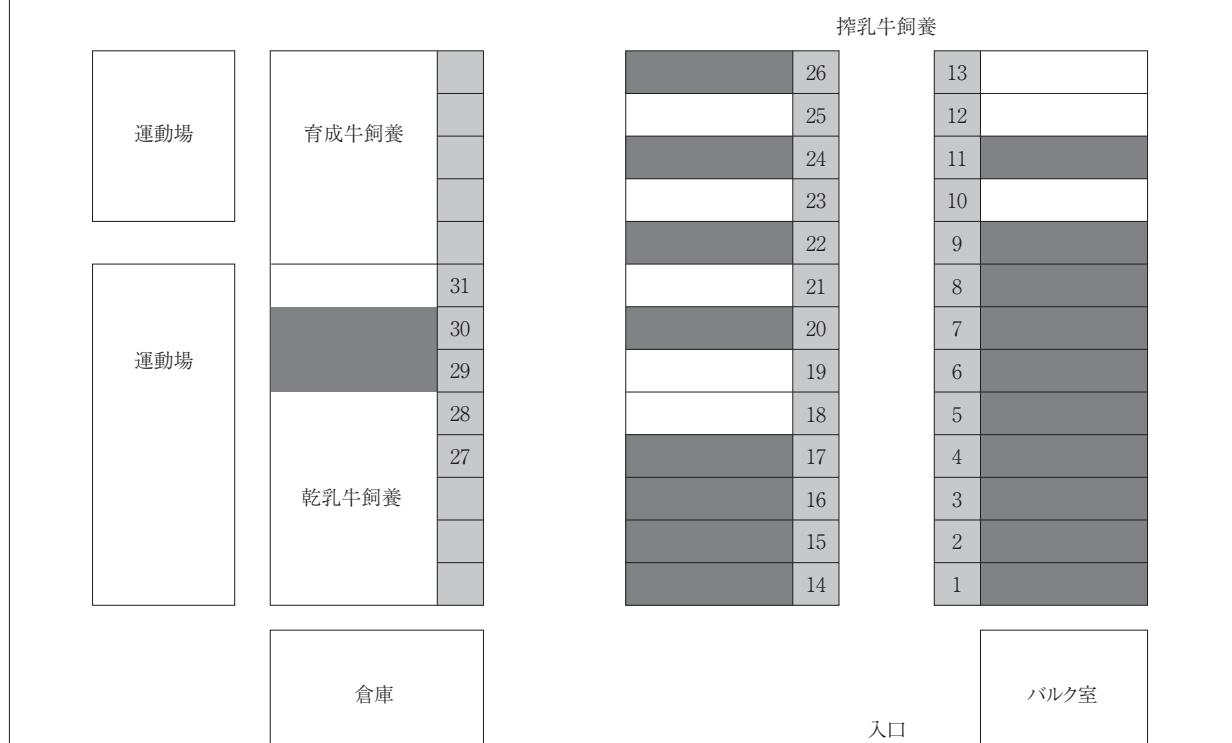


図2 10月30日サルモネラ全頭糞便検査結果

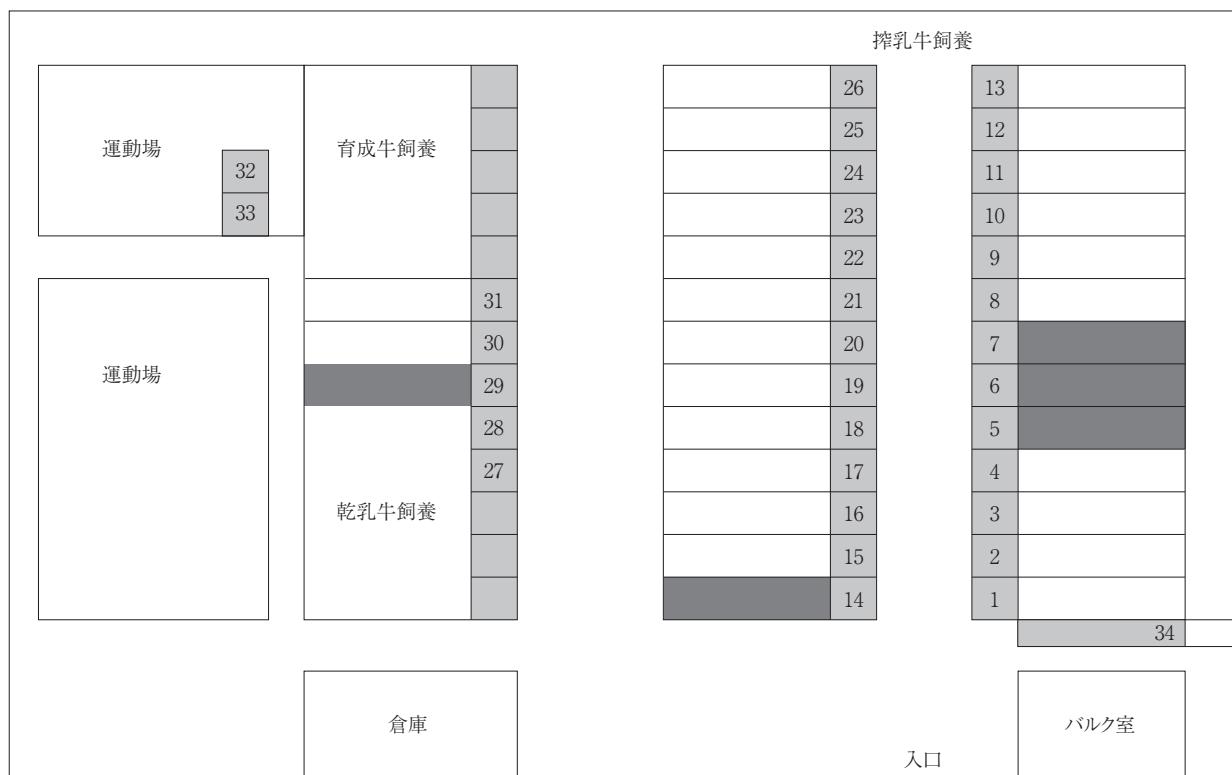
性であった(図2)。11月11日採材では34頭中5頭がサルモネラ属菌陽性(陽性率:14.7%)(図3), 11月20日採材では33頭中2頭が陽性(陽性率:6.1%)であった(図4)。11月20日に採材した直腸便で陽性であった2頭について, 12月1日と10日に再度採材, 検査を実施したところ陰性を確認した。

11月5日に環境中材料を用いた検査では, 40カ所

中8カ所からサルモネラ属菌が分離された。発症牛付近の牛床, 飼槽, ウォーターカップからサルモネラ属菌が分離された(図5)。

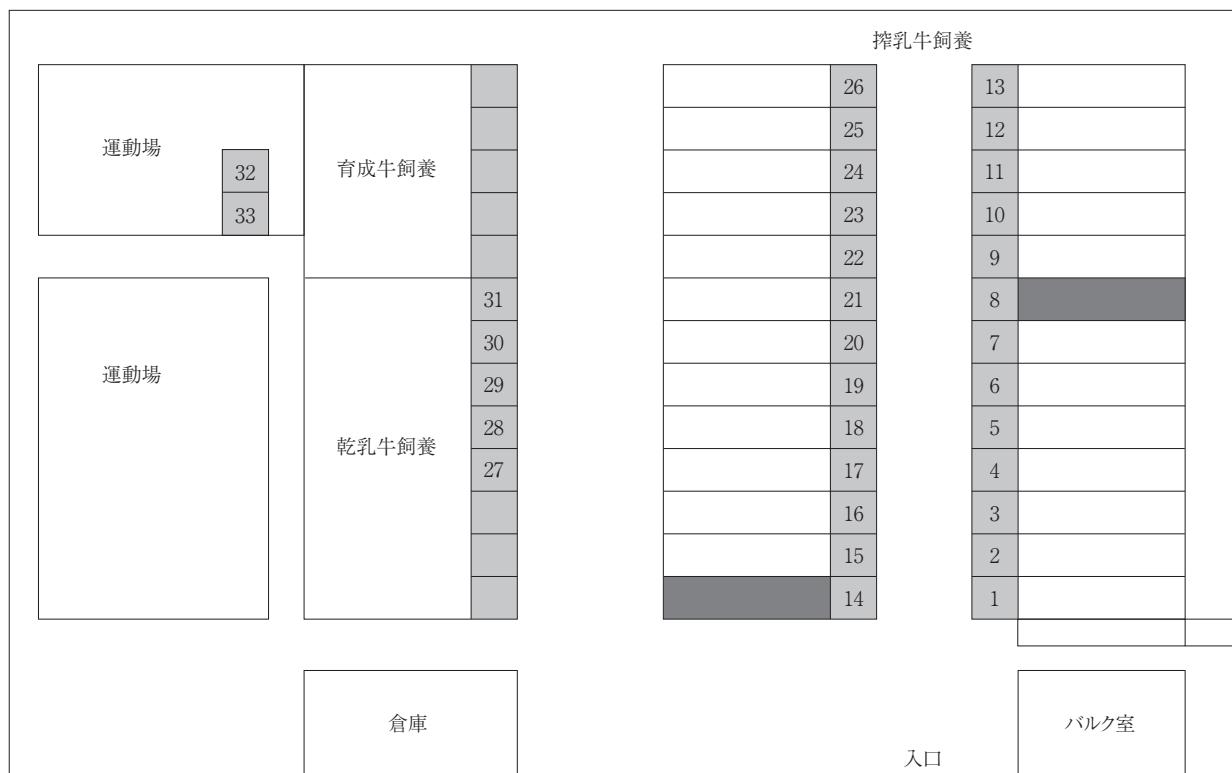
寄生虫検査成績

コクシジウムは10月20日および27日採材の3頭(個体番号:9115, 1015, 1212)で全例陰性であった。肝蛭も10月27日採材の2頭(個体番号:1015, 1212)



陽性 陽性率14.7% (5/34頭)

図3 11月11日サルモネラ全頭糞便検査結果



陽性 陽性率6.1% (2/33頭)

図4 11月20日サルモネラ全頭糞便検査結果

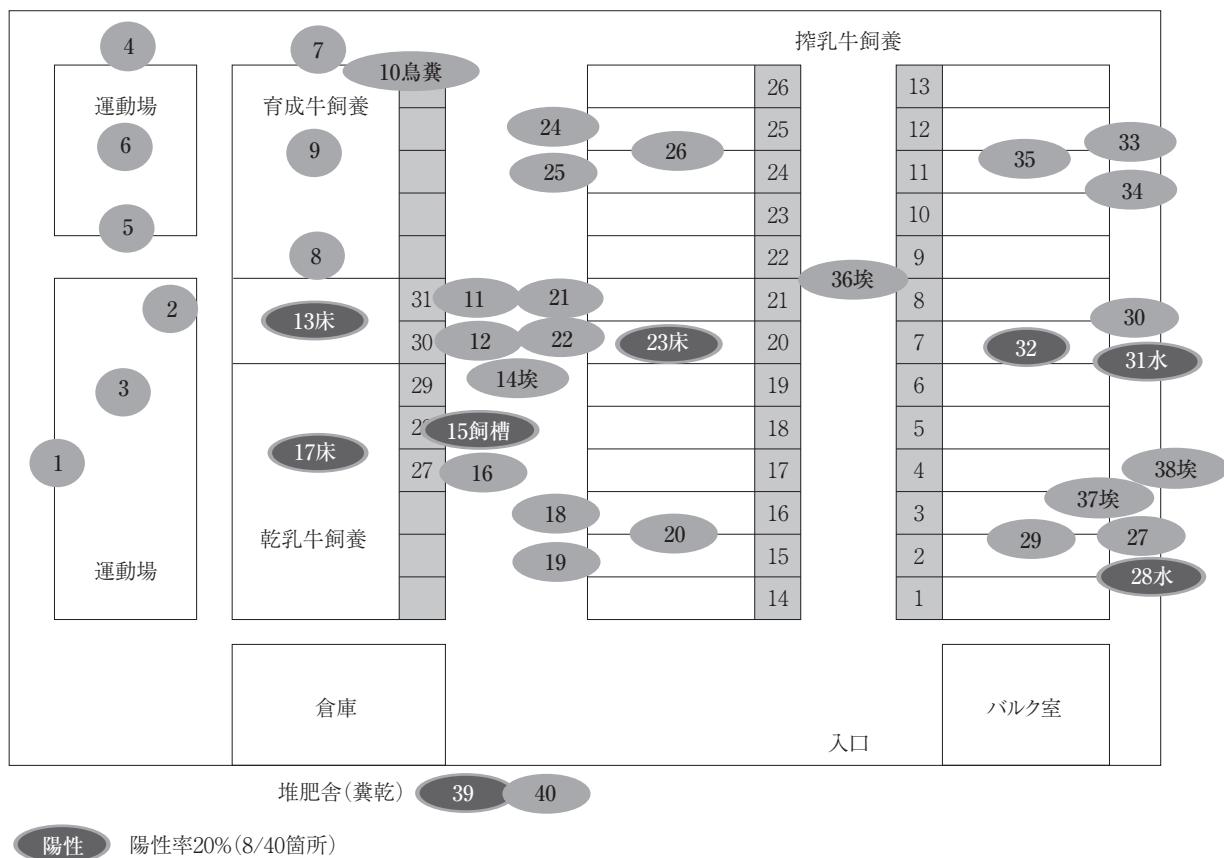


図5 サルモネラ環境中材料検査成績

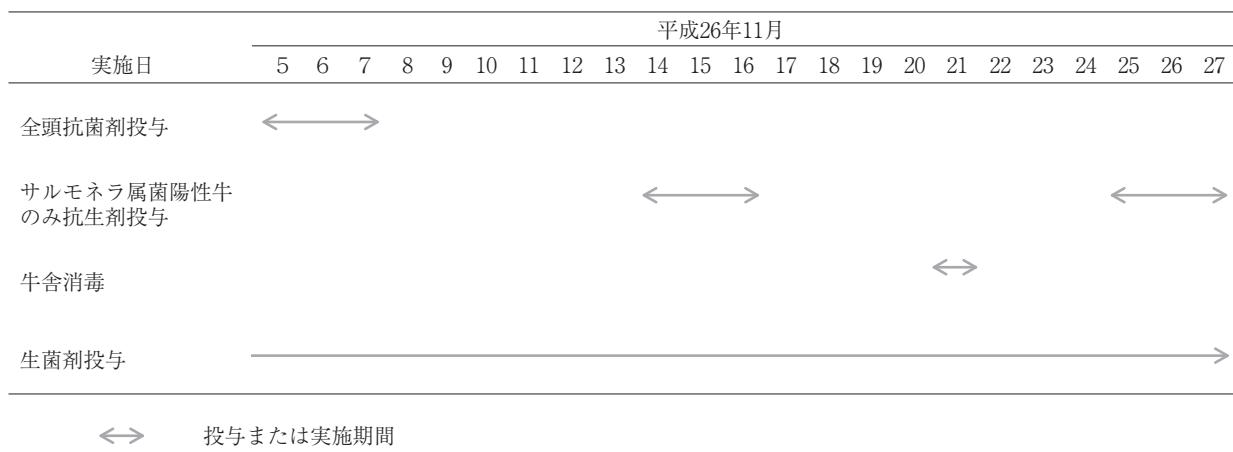


図6 サルモネラ属菌に対する対策

で全例陰性であった(表2)。

対策

感受性のあるCEZもしくはERFXを11月5日から7日まで3日間全頭投与した。その後、11月14日から16日および11月25日から27日については、サルモネラ属菌が分離された牛のみ抗菌剤(ERFX)を投与

した(図6)。

生菌剤(ボバクチン、ミヤリサン製薬)を1頭当たり1日15g、初回抗菌剤投与時から継続して投与した。

11月21日に牛舎消毒を行った。飼槽、牛床およびウォーターカップを、塩素系消毒剤(クレンテを

2,000倍希釀したもの)を用いて消毒を行い、バーンクリーナー付近および通路は石灰乳を塗布した。

考 察

牛のサルモネラ症は、発熱、食欲不振、黄白色水様性の悪臭便や粘血便が特徴的な症状であり、血清型によって症状の違いがみられるものの、中岡らの報告によると下痢の発生率は *S. Typhimurium* で 96%、*S. Dublin* で 72%、その他血清型で 100% と高いものである。⁵⁾ 今回の発生事例では、40℃以上の発熱、食欲不振が高率に観察されたが、下痢症状を呈する牛は、33.3% (6頭中2頭発性) と発生率が低く、症状の程度も悪臭や血便などは見られず泥状下痢と軽度であった。サルモネラ症の特徴的症状は発熱、下痢であるが、血清型によって主症状に違いが見られ、*Dublin* では呼吸器症状が他の血清型と比較して高い発生率を示し、流産や早・死産を主徴とするものも報告されている^{5, 6)}。発熱や食欲不振はさまざまな感染症で観察される症状であり、これらの症状のみでサルモネラ症と診断することは難しい。

今回、発生状況から感染症を疑い、糞便検査等を実施したが、当初の検査ではサルモネラ属菌は分離されず、原因の病原体を特定することはできなかつた。サルモネラの分離は、発症牛の糞便を用いる場合、HTT培地などで18~24時間増菌培養を行つた後、DHL培地などで分離培養するのが定法とされている^{7, 8, 9)}。今回、24時間のHTT培地による増菌後、DHL培地による分離培養ではサルモネラは分離されず、HTT培地にて60時間培養した後、N-DHL培地による分離培養にてサルモネラが分離された。サルモネラは、経口感染し、成乳牛はルーメン内で殺菌されるが、一胃内の異常発酵などにより機能低下を起こすと胃を通過、小腸で増殖し腸炎を引き起こす。マクロファージ等に貪食されたサルモネラ菌は腸間膜リンパ節を経て、リンパ管から血行性に全身に広がり、敗血症を誘発するとされている¹⁰⁾。今回の症例では、下痢症状が軽度であり、なおかつ糞便検査においても増菌培養を60時間実施しなければ

分離できなかつたことから、腸管内での増殖および炎症は軽度であり、糞便からの排菌数が少なかつたことが推察される。ただし、40℃以上の高熱を呈していたことから、全身性炎症性症候群を引き起こしていたと考えられた。

サルモネラによる症状の発現は、血清型や宿主の免疫応答能により異なるとされている⁹⁾。他の国内における *S. Saintpaul* の発生報告によると、兵庫では低栄養による抗病性の低下により激しい下痢と重篤な全身症状を伴つたと報告されている¹¹⁾。今回の事例では、下痢症状が軽いため臨床症状からサルモネラ症を診断することが難しく、糞便検査を実施したが排菌数が少なかつたと推察され、増菌時間を通常より長く培養しないとサルモネラを検出できなかつた。このことにより、初診から診断までに時間がかかることとなつた。サルモネラ症の対策は、早期診断による対策が重要とされている⁵⁾。このような特徴的な下痢症状を呈さないサルモネラ症を早期に診断するには、疫学上感染症を疑い、発熱を呈する牛について、サルモネラ症も原因の一つとして考慮にいれ、特に下痢症状が軽度なものについては、増菌の培養時間を増やして検査が必要と考えられた。

引用文献

- 1) 内田郁夫：牛のサルモネラ症、動物の感染症、小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓士、杉本千尋、宝達勉編、第二版、126-127、近代出版、東京(2006)
- 2) 中村政幸：成牛のサルモネラ症、家畜診療、45、139-151(1998)
- 3) サルモネラ症(牛サルモネラ症)(一部届)、病性鑑定マニュアル、農林水産省・安全局監修、第3版、94-95、全国家畜衛生職員会、東京(2008)
- 4) Vilcek S, Herring AJ, Herring JA *et al.* : Pestiviruses isolated from pigs, cattle, and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, Arch Virol, 136 (3-4), 309-

323(1994)

5) 中岡祐司, 立花智: 北海道における牛サルモネラ症の現状と対策, 家畜診療, 57, 279-285(2010)

6) 西山篤, 岡本幸, 有安亮代: 流・早・死産を引き起こすサルモネラ感染症と防除対策, 家畜診療, 59, 697-702(2012)

7) 細菌検査, 家畜共済における臨床病理検査要領, 平成17年改訂, 310, 全国農業共済協会, 東京(2003)

8) 小林哲夫, 杉本篤紀, 村松直矢ら: 生菌製剤長期連続投与によるサルモネラ (*Salmonella*

Typhimurium) 感染症発生酪農家の清浄化対策, 家畜診療, 47, 833-839(2000)

9) 蓼沼亜矢子, 青木亜紀子: 酪肉複合メガファームにおける牛サルモネラ症の清浄化事例, 臨床獣医, 27(10), 32-35(2009)

10) 内田郁夫: 牛のサルモネラ症, 牛病学, 明石博臣, 江口正志, 神尾次彦, 加茂前秀夫, 酒井豊, 芳賀猛, 真鍋昇編, 第三版, 262-264, 近代出版, 東京(2013)

11) 萩野好彦: 1 酪農場に発生した *Salmonella* Saintpaul 感染症と清浄化対策, 畜産技術ひょうご, 106, 10-13(2012)

A case of *Salmonella* Saintpaul infection in dairy farm cattle

Yasuaki Mito, Yuka Tominaga¹⁾, Yoshihiko Sakabe²⁾

Livestock Section,

¹⁾Seibu Veterinary Clinic, Okayama P.F.A.M.A.A.

²⁾Okayama Prefectural Takahashi Livestock Hygiene Service Center

(1-30 kuwata-cho, Kita-ku, Okayama-shi, Okayama 700-8602)

SUMMARY

Bovine salmonellosis is an infection caused by the genus *Salmonellae* and manifested by cardinal symptoms of diarrhea and systemic inflammatory response syndrome. In a dairy farm where 31 mature and 7 growing cows were raised, 6 developed anorexia and fever, of which 2 developed mild diarrhea without foul odor or blood in approximately a month after September 29, 2014. A fecal examination was performed on the 6 cows with symptoms and or 8 cows raised in the same cattle barn, resulting in the isolation of *Salmonella* Saintpaul (*S. Saintpaul*). In a blanket fecal examination including infected cattle conducted on October 30, 2014, 20 out of 31 cows (64.5%) tested positive for the genus *Salmonellae*. As countermeasures, the administration of antimicrobial agents effective against the isolated *Salmonella* to all cattle, continuous administration of viable microbial preparations, and disinfection of cattle barns were conducted. On November 20, 2014, as a result, only 2 out of 33 cows (6.1%) tested positive with no fever or anorexia observed. Since salmonellosis is manifested by various symptoms, examinations such as bacterial isolation and antimicrobial susceptibility testing of bacterial isolates are considered necessary for a cow with suspected infection.

【Keywords : salmonellosis, diarrhea, *Salmonella* Saintpaul, incubation time】

J Livestock Med, 64, 23-30(2016)