哺育牛に発生した *Salmonella typhimurium* 感染症とその治療試験

鈴木 要* 五十嵐丈人* 金井 久* 小泉俊二* 高橋 勇** 清水 健***

(昭和 54 年 1 月 19 日受理)

Outbreaks and Treatment of *Salmonella typhimurium* Infection in Calves

KANAME SUZUKI et al.

(Central Veterinary Diagnostic Laboratory, Prefecture of Gumma, Fujimi, Gumma 371-01)

SUMMARY

Severe diarrhea broke out collectively among calves on two rearing farms in Gumma Prefecture. Five dead calves were examined bacteriologically and histopathologically and proved to be infected with

Salmonella typhimurium. Treatment with colistin sulfate or ampicillin or both was so effective that diarrhea was cured, the fatality rate reduced remarkably, and the rate of discharge of bacteria decreased.

はじめに

哺育牛に多発する下痢は、しばしば高い死亡率および廃用率をともなうため¹⁾飼養農家の受ける経済的損失は莫大なものがある。とくに近年国内において、肥育子牛の *Salmonella* 感染の集団発生例が相次いで報告され^{5,9-11)}問題となっている。

著者らは 1976 年 7 月～8 月に群馬県下 2 牧場(以下、T および F と略す)において、乳用雄子牛の下痢の集団発生例に遭遇した。それら致死・廃用および同居牛の細菌学的、病理学的検査の結果から本病は *Salmonella* 感染によるパラチフスと診断された。そこで、同居牛に対して数種の抗生物質投与試験を実施し、効果を認めたのでその概要を報告する。

材料と方法

1. 発生状況調査

1) 細菌学的検査

T 牧場は 7 月下旬～8 月上旬にかけ 3 回に分けて合計 73 頭(致死・廃用各 1 頭、育成牛 9 頭、哺育牛 56 頭、肥育牛 6 頭)と F 牧場では 8 月下旬 1 回の合計 28 頭(致死 3 頭、哺育牛 25 頭)を対象に調べた。

その他は牛舎床面 9、パケツ 3、代用乳調整器具 1、代用乳 5、番犬 6 頭などである。細菌検査は実質臓器および消化管内容物を血液加 Deoxychoate-Hyblageh Suifebe-Lactose Agal (以下、DHL 寒天と略す)に直接塗抹あるいはハーナーテラチオン酸塩基培地で増菌

後、上記 DHL 寒天平板に培養した (37℃ 24 時間)。

2) 病理組織学的検査

実質臓器および消化管を肉眼的観察の後、一部を 10% ホルマリン液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色により実施した。

3) 耐性菌分離

新鮮な糞を約 5 倍量の生理食塩液で希釈し、TC, CM, SM の各薬剤を加えた BTB 乳糖加平板および SA を加えた合成培地に 1 ユーゼ塗抹、1 夜培養後生じた乳糖分解菌のコロニーのうち、各平板から 3 個ずつを選び新しい BTB 乳糖加平板上に集め、さらに 1 夜培養した後、これをマスタープレートとして TC, CM, SA の各薬剤加平板にレプリカ⁶⁾して、各分離コロニーの耐性型を判定した。各個体別に異なった耐性型の株が得られた場合、これらを 1 株ずつ保存した。

4) 分離株の同定および耐性値測定

分離菌について腸内細菌検索同定法⁷⁾にもとづき、Kligler, Simmons, SIM, VP-MR などの培地を用い大腸菌であることを確認した。耐性値の測定にはハートインフュージョン寒天、SA については合成培地を用いた。耐性値は最大発育許容濃度で示した。TC, CM, SM は 25 μg/ml, SA は 200 μg/ml 以上を耐性株と定めた。

5) R 因子の検査

耐性伝達因子 (R 因子) の有無を検出するためには、Donor としての分離株 (すなわち耐性菌) と Recipient としての NA 耐性の大腸菌 K-12 株 ML 1410 を BHI 培地に 1 夜培養し、各 0.2 ml の等量を混合培養して、さらに 1 夜培養し、NA (25 μg/ml) を入れた TC, CM, SM, SA の各薬剤平板に 1 ユーゼずつ培養した。TC, CM, SM については BTB 乳糖加平板を、SA には合成培地を用いた。ここで発育したコロニーは R 因子の伝達

* 群馬県中央家畜病性鑑定所 (群馬県勢多郡富士見村小暮)

** 日本獣医畜産大学 (東京都武蔵野市境南町 1-7-1)

*** 農林水産省家畜衛生試験場 (茨城県筑波郡谷田部町観音台 3-1-1)

による耐性菌で、その耐性形は耐性検査で行なった同一方法で各選択平板上に発育した3個づつのコロニーについてレプリカ法⁹⁾によって決定した。

2. 治療試験

1) 供試牛

T牧場は下痢感染牛(8月11日～9月14日の間)および未発症の哺育牛を含む56頭(このうち40頭が *Salmonella* を排菌)、さらにF牧場では哺育牛16頭(全頭に排菌を認めた)の合計72頭である。

2) 供試薬剤および投与方法

T牧場において飼料添加剤としてはCL顆粒協和(本剤は製剤1g中CL力価20mg含有)、また注射剤としてはAPC(本剤は製剤1g中、APC力価200mg含有)を表1のとおり、それぞれの群に単体または併用した。

その使用法はCL顆粒協和を体重Kgあたり2gの割合に代用乳へ溶解し、1日1回5日間の投与。またAPCは1頭2mlの割合で1日1回3日間皮下注射した。いっぽう、F牧場ではT牧場と同様、CLを10日間単体で使用した。

3) 臨床検査

供試牛の一般症状および排便の性状について、経日的に肉眼で観察すると同時に新鮮糞を採取し、*Salmonella* の定性および定量培養〔厚生省衛生検査指針 Most Probable Nonver (以下、MPNと略す)法〕を行なった。

表1 抗生物質の投与試験区分

区 分	供試頭数			投 薬 方 法
	下痢牛	未発症牛	計(頭)	
T-I	15	16	31	CL×5日間
T-II	6	9	15	(CL×5日間)+(APC×3日間)
T-III	2	3	5	APC×3日間
T-IV	1	4	5	(無投薬×5日間)+(CL×5日間)
F-I	14	0	14	CL×10日間
F-II	2	0	2	無投薬
計	40	32	72	

注) CLはコリスチン、APCはアンピシリン

試 験 成 績

1. 発生状況

1) 発生の概要

T牧場は毎月、生後7～10日齢の乳用雄子牛を70～100頭導入し、常時1,600頭前後を飼育する大型の肉牛生産農家で、経験も10年を越す優良農家である。当牧場における被害は哺育牛の斃死廃用率3～5%程度であったが、1976年6～7月に導入した幼齢牛180頭に下痢症状で死亡するものが続発し、合計90頭が斃死また

は淘汰される一大惨事となった。感染牛は悪臭ある黄色～緑色～灰白色の水様性～粘液様の下痢便を排し、一般症状も不良で、食欲不振、削瘦、眼球陥没が著明であった。重症例では脱水症状を呈し、歩様踴躍または起立困難となり、斃死するものがあった。なお、60日齢以降の育成牛や肥育牛には下痢の発生が認められなかった。

F牧場も乳用雄子牛を飼育する中型の牧場で1976年8月22日に下痢を伴う哺育牛1頭が突然斃死し、病性鑑定材料として持ち込まれた。さらに同牧場で飼育する子牛36頭について臨床観察を行なったところ24頭が下痢をしており、正常なものは少なかった。

2) 斃死、廃用牛の検査

(1) 細菌学的検査: 斃死・廃用牛5頭のうち4頭の各実質臓器から、ほぼ純粋に硫化水素を産生するコロニーがDHL寒天平板上に密発した。さらに腸リンパ節および腸管各部の内容物からも同様のコロニーが表2のとおり検出された。

これらのコロニーについて生化学的性状および血清学的検査を実施したところ、いずれも *Salmonella typhimurium* (以下、*S. typhimurium* と略す)と同定された。

表2 *Salmonella typhimurium* の分離状況(死廃牛)

牧 牛 場 (No.)	腸 十 空 盲 直 結 心 腎 肝 脾 肺 胃 二 指 淋 腸 腸 腸 腸										備 考				
T {	1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	死	亡	
	2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	死	用	
F {	3	・	・	・	・	・	卅	・	卅	卅	卅	卅	・	死	亡
	4	卅	卅	卅	一	卅	卅	・	一	+	一	一	+	死	亡
	5	卅	卅	卅	卅	卅	卅	・	+	+	一	一	一	死	亡

注) 一～卅: 菌数 ・: 検査せず

新鮮分離株について、16種類の薬剤に対する感受性テストを実施したところ、クロラムフェニコール、コリスチン、ポリミキシンB、フラゾリドン、ナリジキシン酸およびアンピシリンに感受性を認めたが、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、カナマイシンおよびサルファ剤の4剤に耐性を示した。また後期に分離した菌株の薬剤感受性を調べたところ、上記、4剤のほかAPCにも耐性が認められた。なお、これら耐性はR因子によるものであった。

(2) 病理組織学的検査: 全般的に肉眼的な変化に乏しく、病変は主として腸に限局して認められた。すなわち、腸は弾力を欠き、腸壁の菲薄化と各所に小斑状ないし点状のうっ血と出血を認め、悪臭ある黄色ないし黄白色の腸内容物をいれていた。腸間膜リンパ節は腫大して、辺縁性に赤色を帯びている。

実質臓器の病変は全体をとおして少なかったが、肝・

写真1 粘膜上皮の剝離および脱落

腎の軽度濁濁と少数例の肝に壊死性の小白点が認められた。心臓では冠状溝・縦溝の脂肪織に赤点の散在、肺ではうっ血の見られる例が多かった。脾臓は軽度腫脹を示す例があったが全体的には著変が認められなかった。病理組織学的には肺ではうっ血が強く、間質の限局性出血、間質および肺胞の水腫と気管支上皮の剝離・脱落、間質ならびに気管支内に好中球浸潤がみられた。心臓では内膜に近在した心筋に心変性部が散見された。肝では類洞内に小数の好中球浸潤とクーパー星細胞の活性化、小葉内に小円形細胞を主とした細胞集簇と小壊死、グリソン鞘に小円形細胞増加などが観察された。脾は2例においてリンパ汙肺内リンパ様細胞の核濃縮・核破碎、網内系細胞増殖と赤脾髄の血量増加がみられた。腸間膜リンパ節は水腫性で洞カタル、リンパ小節の不明瞭化、リンパ球核変性と好中球・網内系細胞の浸潤が認められた。消化管では腸粘膜上皮の剝離・脱落、粘膜固有層および粘膜下織における好中球ならびに小円形細胞浸潤が明瞭であった。なお中枢神経系には著変が認められなかった。

大脳・小脳・延髄・脳橋および脊髄には著変が認められなかった。

写真2 粘膜下における細胞の浸潤

(3) 同居牛および飼育環境の細菌学的検査成績：T牧場では表3に示したとおり、育成牛・肥育牛を除いて、哺育牛の56頭のうち32頭(57%)から、さらに牛舎内の器具、飼育環境や番犬にいたるまで高率に*S. typhimurium*が分離され、牧場ぐるみの汚染であった。また、F牧場では感染牛を含む25頭の哺育牛のうち23頭(92%)から*S. typhimurium*が分離された。

表3 *Salmonella typhimurium* の分離成績 (同居牛および飼育環境)

牧場	同居牛		飼育環境、器具、その他						
	哺育	肥育	牛舎	哺育乳バケ	代乳具	調整器	代乳	番犬	計
T	32/56 (57%)	0/9 (0%)	0/6 (0%)	32/71 (45%)	9/9 (100%)	1/3 (33%)	1/1 (100%)	0/5 (0%)	4/6 (67%)
F	23/25 (92%)	0/0 (0%)	23/25 (92%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)	0/0 (0%)

注) ・：検査せず

さらに同じF牧場において、その後に導入された子牛について *Salmonella* 伝播状況を経目的に追求してみたところ、導入時すでに本菌が検出されたものが3頭あり、その後排菌頭数は上昇の一途をたどり、10日目には36頭のうち27頭に排菌が認められ、本菌の伝播はかなり早いことが判明した。

図1 F牧場における導入牛の汚染経過

2. 治療試験

1) 感染頭数の推移

T牧場において、投薬した5日間および投薬終了後30日間の下痢頭数の推移と臨床観察を行なった。

(1) 試験区：T-I区(CL×5日間)、T-II区(CL×5日間+APC×3日間)、T-III区(APC×3日間)の下痢頭数は表4に示したように経目的に減少し、おおむね3～4日の経過で回復した。

(2) 無投薬区：T-IV区では逆に下痢頭数が増加し、

哺育牛に発生した *Salmonella typhimurium* 感染症とその治療試験

表4 CLおよびAPC投薬牛の下痢ならびに *Salmonella typhimurium* 排菌抑制効果

区分	投与薬剤	区分 経過 日数	下痢頭数					排菌頭数			
			開始前	2日目	3日目	4日目	5日目	開始前	7日目	14日目	35日目
牧場一区	および期間	供試頭数									
T-I	CL×5日	31	15	10	6	1	1	21	7	5	1
T-II	CL×5日 +APC×3日	15	6	5	3	2	1	9	2	2	1
T-III	APC×3日	5	2	2	2	0	0	5	0	0	0
T-IV	無投薬	5	1	3	5	5	5	5	4	4	2
F-I	CL×10日	14	14	14	11	7	3	14	•	5	•
F-II	無投薬	2	2	2	•	•	•	2	•	•	•

注) 日数は投薬開始日からの経過日数を示す。また・は検査せず

3日目以降は全頭が下痢を発生し、5日目でも回復しないので、以後T-I区と同じ方法で投薬（CL×5日間）に切りかえたところ、上記とほぼ同様の経過で治癒した。

また、投薬終了後の観察では各区とも1～2頭に下痢を再発するのを認めた。

F牧場ではCLを10日間連続投与し観察を行なった。投薬したF-I区は、T牧場の投薬区と同様に下痢頭数の経日的な減少が認められたが、6日目以降は治癒と再発を繰り返すものが若干認められた。また、無投薬のF-II区は、経過とともに症状が重篤の度を増し、3日目には全頭（2頭）が斃死した。

2) 投薬中および投薬後の *Salmonella* 検出状況

T牧場においては、表4に示したように投薬区（T-I、T-II、T-III）の菌検出頭数は下痢の回復にともない減少した。また5日間の無投薬放置後、T-I区と同様の投薬を行なったT-IV区も同様に排菌頭数が減少した。しかし、35日後においてT-I、T-IIおよびT-IV区で1～2頭の排菌を認められたが、T-III区からは7日目以降、本菌は検出されなかった。

F牧場では投薬したF-I区は、投薬前には全頭（14頭）が本菌を排出していたが、投薬後12日目には排菌が5頭に減少した。

無投薬のF-II区は前述のように3日目に全頭（2頭）とも斃死した。

T牧場のT-I、T-II、T-IIIおよびT-IVの各区についてプールした糞便における *Salmonella* 排菌量（MPN/G 直腸便）の推移を調べたところ、上記の *Salmonella* 検出頭数の減少傾向とよく一致した。

考 察

子牛の下痢を主徴とした感染症の原因は *Salmonella*^{4, 5, 9-10)} の他、ウイルスならびに寄生虫などによる場合もある。今回の発生例ではその他の検査を実施していないので、*Salmonella* 以外の発生要因の有無については明確で

図2 排菌量（T牧場）〔表4、T牧場の排菌頭数をMPNで表わした〕

ない。しかし、細菌学的検査の結果、斃死・廃用牛の各実質臓器、感染牛の腸内容、さらに牛舎環境などから、それぞれ *S. typhimurium* が分離され、しかも病理組織学的検査により、出血性カタル性腸炎、その他臓器変状などの特徴的病変が認められたことなどから、今回の発生例はパラチフスと診断して差し支えないものと思われる。

また、*Salmonella* の感染経路は、主として経口感染によると考えられている⁴⁾。今回の調査結果からみても経口感染の様相が十分うかがわれる。すなわち、感染牛から排泄された *Salmonella* が飼養環境を汚染し、他の牛へと感染した。そこで、*Salmonella* の感染防止のために隔離畜舎内および哺育用器具を十分消毒した後に牛を導入するよう畜主に指導したが、導入時すでに保菌牛が混じっており消毒の効果もなく急速な感染がみられた。

これらは哺育牛の肥育牧場における最も一般的な *Salmonella* の感染方式であろうと考えられる。原因となった *Salmonella* の感染は日齢により大きな差異のあることは、すでに橋本、その他³⁻⁵⁾ によって報告されているが、本菌が検出された今回の症例はすべて60日齢までであり、それを越えた育成牛・肥育牛などでは下痢の発

生がなく、*Salmonella* も分離されなかった。またいっぽう、下痢の発生した哺育牛は早い経過で一般状態が悪化し、斃死または廃用となる例が多かった。したがって、本病の対策は導入牛の *Salmonella* 防除策を主眼とし、早期発見、早期治療をするとともに感染牛の隔離、予防対策などを徹底して行なうことが第一と考えられた。

最近では家畜から分離される *Salmonella* には多剤耐性菌がかなり認められている^{10,12)}。いっぽう本菌は一般に CL および APC に対して高い感受性を示すとされ、とくに CL に対しては今までのところ耐性菌の発現がほとんど認められていない^{9,10,12)}。著者らも分離した *S. typhimurium* の薬剤感受性試験で両薬剤に高い感受性を認めた。CL および APC の子牛パラチフスに対する野外臨床応用に関する報告はあまり見当たらない。今回、著者らは CL 4mg 力価/kg 体重に 5～10 日間経口投与と APC の 4mg 力価/kg 体重 3 日間の皮下注射を単用または併用投与したところ、無投薬牛群では下痢症状が著しく、斃死するものが多かったが、投薬牛群では下痢の回復が早く、斃死する例は認められなかった。また、これらの投薬群では *Salmonella* の保菌頭数および排菌量はともに減少の傾向にあった。したがって、これら投薬による子牛パラチフスの治療効果は有効と判断した。なお、下痢発生当初の *S. typhimurium* は R 因子による 4 剤耐性菌（テトラサイクリン、ストレプトマイシン、カナマイシンおよびサルファ剤）であったが、その後、分離株には上記 4 剤の他に APC の加わった 5 剤耐性株が分離された。しかし、CL 耐性株の分離はされなかった。この APC 耐性株は前記の APC 投与実験群および、それ以外の群からもほぼ同じ時期に分離された。したがって、この APC 耐性が APC 投与によって発現したのか否かは明らかでない。いずれにせよ APC 単用あるいは APC と CL の併用とも有効と認めるべき成績を得た。このように、今回分離した 4～5 剤耐性 *S. typhimurium* に対して、とくに CL は有効で、しかも本剤の耐性株の出現が認められなかったことは、本菌感染症対策に最も有用な薬剤であったと考えられる。ただし本剤の経口投与の場合、腸管からの吸収がほとんど行なわれないため、*Salmonella* の感染が全身に及んだ場合には十分な効果を得られないものと思われる。しかし、APC と併用すれば治療効果が期待できる。一度 *Salmonella* の浸潤を受けた牧場では、長期にわたって汚染の続くことが報告されている⁴⁾。その原因の一つとして、本発生例でも認められたように治療後再発するものや長期保菌牛の存在が考えられ *Salmonella* 対策のむずかしさを物語っている。

本病対策としては牧場に導入する子牛に対して、一定の週齢までの間は前述したような予防策を講ずることが必要と考えられ、今後この点について検討する予定である。

以上、牛肥育牧場における本菌の根本的清浄化は短期間ではむずかしく、本菌が常在化した牧場では導入牛の哺育期に薬剤を投与し、予防するとともに畜舎の消毒を励行し、長期的観測で清浄化の計画をたてる必要のあることを痛感した。

ま と め

1. 群馬県下 2 カ所の牧場で飼育している哺育牛に斃死をとまう下痢症が集団発生した。
2. 斃死牛 5 頭について、細菌学的・病理組織学的検査を実施した結果、*S. typhimurium* 感染によるいわゆるパラチフスと診断された。
3. 2 牧場の哺育牛のうちで本菌が検出されたものは、T 牧場では 56 頭中 52 頭 (57%) で、F 牧場では 25 頭中 23 頭 (92%) と高率であった。また、T 牧場における飼育環境を検査したところ、環境も本菌により広範的に汚染されていることがわかった。
4. F 牧場における導入牛の経過的な観察の結果から、3 頭の保菌牛が感染源となって *Salmonella* が短期間のうち飼育牛の全群に伝播してゆく状況が明らかにされた。
5. これらの感染牛に対して硫酸コリスチン (CL) およびアンピシリン (APC) を単体または併用することによって、下痢の回復、死亡率の著減、排菌率の低下などが認められ、本症に対してこれらの両薬剤は有効と判断された。

引 用 文 献

- 1) 伝染病研究所学友会編：細菌学実習提要，342～399，丸善 (1959)。
- 2) 遠藤信太郎，ほか：畜産の研究，28，52～54 (1970)。
- 3) 藤原三男，ほか：獣畜新報，586，17～21 (1973)。
- 4) 橋本和典：日獣会誌，25，24～32 (1972)。
- 5) 橋本和典：農水省家畜試験研究報告，59，14～22 (1970)。
- 6) LEDERBERG, J. and LEDERBERG, E. M.: *T. Bacteriol.*, 63, 399～405 (1952)。
- 7) 佐藤儀平，ほか：北獣会誌，18，125～133 (1974)。
- 8) 佐藤儀平：畜産の研究，29，25～37 (1975)。
- 9) 鈴木 要：日細誌，25，145～148 (1976)。
- 10) 高橋 勇：モダンメディア，22，22～23 (1976)。
- 11) 高橋 徹：日獣会誌，25，242～245 (1972)。
- 12) 寺門誠致：動業換年報，9，51～57 (1972)。

<技術の手引き> 牛 衛 生 必 携

牛 の 放 牧 衛 生

定 価 2,600 円 (〒実費)

発 行 日 本 獣 医 師 会