

兵庫県内で分離された牛由来 *Salmonella* Typhimurium の性状比較

清水優花、島田昌彦、渡邊 理、市原 譲 兵庫県姫路家畜保健衛生所

【はじめに】

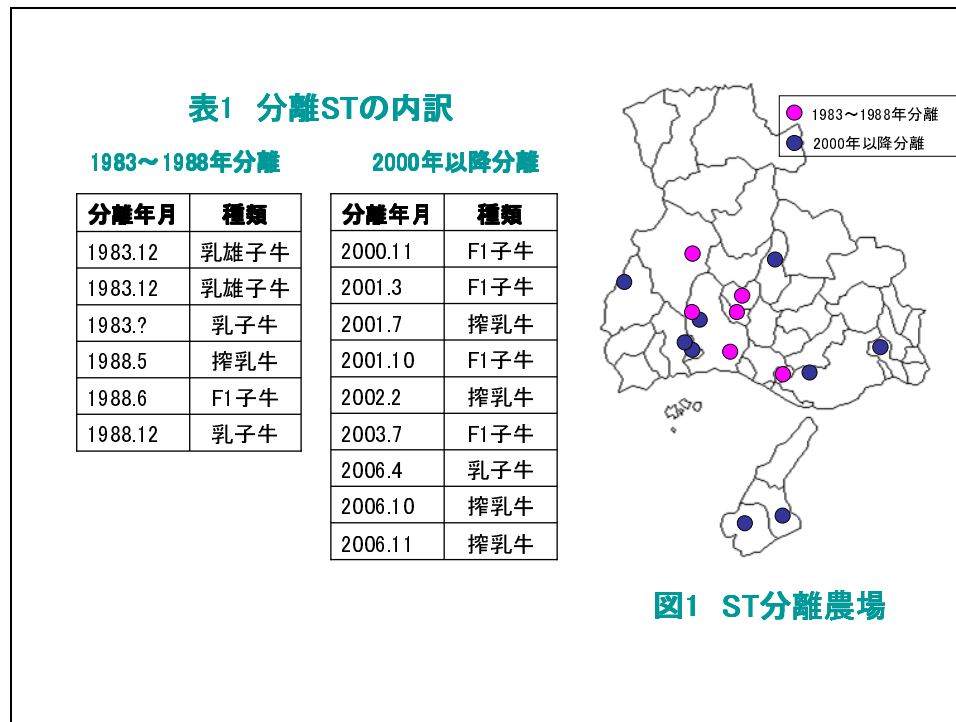
Salmonella Typhimurium (ST) による牛サルモネラ症は全国的に多発しており、兵庫県内でも ST による牛サルモネラ症の発生がみられる。1990 年代以降、ST definitive phage type104(DT104)が国内に浸潤し、近年ではキノロン系薬剤に耐性を示す ST も出現している。そこで、県内で分離された牛サルモネラ症由来 ST について型別を行い、分離時期や発生状況による性状の違いを調査した。

【材料】

県内で発生した牛サルモネラ症から分離された ST15 株を供試した (表 1, 図 1)。

1983~1988 年 6 農場由来 6 株 (子牛 5 株、成牛 1 株)

2000~2006 年 8 農場由来 9 株 (子牛 5 株、成牛 4 株)



【方法】

- (1) 薬剤感受性試験 寒天平板希釈法 (アンピシリン A、セファゾリン CZ、カナマイシン K、ゲンタマイシン G、ジヒドロストレプトマイシン S、オキシテトラサイクリン T、クロラムフェニコール CP、ナリジクス酸 NA、エンロフロキサシン ERFX、スルファジメトキシシン Su)
- (2) 遺伝子解析 パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE)
- (3) プラスミド解析 プラスミドプロファイル法 (PP)、病原性プラスミド (VP) の保有 PCR
- (4) DT104 及び U302 に特異的な PCR (DT104 PCR) ファージ型別 (国立感染症研究所に依頼)
- (5) クラス 1 インテグロン (int1) の保有 PCR

(6) CZ 耐性 ST についてはセファロスポリナーゼ産生能、セフェム系薬剤感受性

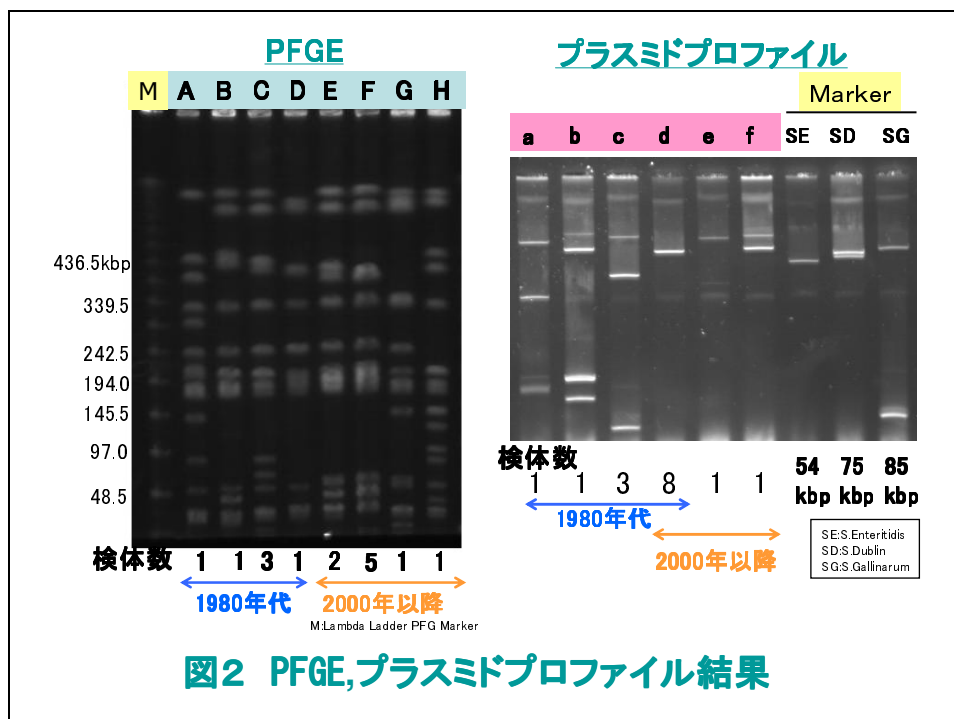
【結果】

(1) 薬剤感受性は 1 ～ 6 剤耐性の 6 パターンに分かれ、5 剤以上耐性が 13 株 (86.7%) であった。G、NA、ERFX にはすべて感受性で、A、S、T、Su には高度の耐性を示した。CZ 耐性は 2 株であった (表 2)。

耐性薬剤数	耐性薬剤	株数	1980年代分離株	2000年以降分離株
1	Su	1	1	
3	Su,T,K	1		1
5	A, S,Su,T,K	1	1	
5	A,CP,S,Su,T	7		7
6	A, S,Su,T,K,CZ	2	1	1
6	A,CP,S,Su,T,K	3	3	

(2) PFGE は 8 パターンに分かれ、1980 年代分離株と 2000 年以降分離株で同一パターンはなかった (図 2)。

(3) PP は 6 パターンに分かれ、90kb にバンドがある ST が 3 パターン 10 株 (66.7%) あり、120kbp 付近にバンドがある ST が 3 パターン 4 株 (26.7%) あった。VP PCR は 9 株 (60%) が陽性であった (図 2)。



(4) DT104 PCR は 7 株 (46.7%) 陽性で、すべて 2000 年以降分離株であった。

(5) int1 は 1kbp のみ、1kbp と 1.2kbp の 2 種類、保有しない株の 3 パターンにわかれた。

(6) CEZ 耐性 2 株のうち 2006 年分離 1 株はセファロスポリナーゼを産生し、第 3 世代

セフェム系薬剤に耐性であった。

1980年代分離株はVP、int1を保有しないSTが多く、PFGE、PPは多様なパターンであった。2000年以降分離株のうち7株(77.8%)はファージ型DT104であり、薬剤感受性、特徴的なint1を保有し、PFGEは近縁な2パターン、PPは同一パターンであった。

【考察】

STの型別を行ったところ、9タイプに分かれた(表3)。

表3 分離年度での比較

タイプ	分離年月	耐性薬剤	PFGE	PP	VP	DT104	ファージ	インテグロン	AmpC
1	1983.12	A,CP,S,Su,T,K	A	a	-	-	UT	-	-
2	1983.12	A,S,Su,T,K,CZ	B	b	+	-	193	-	-
3	1983.?	A,CP,S,Su,T,K	C	c	-	-	UT	-	-
4	1988.5	A,S,Su,T,K	D	d	-	-	21	1 kbp	-
5	1988.6	Su	C	c	-	-	193	-	-
3	1988.12	A,CP,S,Su,T,K	C	c	-	-	UT	-	-
6	2000.11	A,CP,S,Su,T	E	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
6	2001.3	A,CP,S,Su,T	E	d	+	+	UT	1,1.2kbp	-
7	2001.10	A,CP,S,Su,T	F	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
7	2001.7	A,CP,S,Su,T	F	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
8	2002.2	Su,T,K	G	e	-	-	UT	-	-
6	2003.7	A,CP,S,Su,T	E	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
9	2006.4	A,S,Su,T,K,CZ	H	f	+	-	UT	1 kbp	+
6	2006.10	A,CP,S,Su,T	E	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
6	2006.11	A,CP,S,Su,T	E	d	+	+	104	1,1.2kbp	-
計		6パターン	8パターン	6パターン	9/15	7/15		3パターン	1/2

UT:Untypable

1980年代分離株と2000年以降分離株で同一タイプのものはなかった。また、1980年代分離株はKM耐性が多い(83.3%)が、2000年以降分離株はKM耐性が少なかった(22.2%)。

2000年以降はDT104が県内でまん延しており、近縁な2タイプであったが発生農場間での疫学的な関連性はなかった。

今回分離されたSTを型別し、得られた知見を総合すると、県内でみられた牛サルモネラ感染症は、その地域在来の株が抗生物質の投与などの影響を受けながら変異し、現在の株になったのではなく、他の地域から入ってきた異なる株が入れ替わりながら牛サルモネラ症を起こしていると考えられた。

発生状況による違いをみると、子牛ではSTのタイプに関係なく、導入後数日で発症しているものが多く、保菌子牛が導入時のストレスなどによって発症し、同居牛に感染が広がるものと考えられる(表4)。また成牛は導入の有無に関係なく発症し、初産分娩前後の牛や泌乳最盛期の牛での発症が多かった(表5)。

表4 子牛における発生状況

発生年月	タイプ	畜種	導入との関係	死亡/発病頭数
1983.12	1	乳雄	発生直前	3/6
1983.12	2	乳雄	発生直前	10/70
1983.?	3	育成雌	不明	不明
1988.6	5	F1	発生直前	4/16
1988.12	3	乳雄	発生直前	0/2
2000.11	6	F1	発生直前	3/15
2001.3	6	F1	発生直前	0/?
2001.10	7	F1	発生直前	0/?
2003.7	6	F1	発生直前	0/7
2006.4	9	F1,乳雄	発生3か月前	0/15

表5 成牛における発生状況

発生年月	タイプ	導入との関係	死亡/発病頭数	流早産
1988.5	4	1年前	0/1	なし
2001.7	7	4か月前	2/9	2
2002.2	8	なし	0/1	なし
2006.10	6	なし	2/5	なし
2008.11	6	なし	2/3	4

*成牛での発生はすべて搾乳牛

ファージ型 DT104 による成牛の症例では、流早産や死亡など症状が重篤となり、牛群全体に広がり被害が大きくなる傾向がみられた。

今回供試した ST はすべてキノロン系薬剤には感受性であったが耐性薬剤数が多く、第3世代セフェム系薬剤に耐性株の出現もみられ、家畜における多剤耐性化 ST のまん延が危惧される。ST は人獣共通感染症であることから、今後も新たな薬剤耐性株の発現防止対策が必要である。