

【短報】

肉用牛繁殖農場で発生した牛ボツリヌス症

中尾聰子¹⁾, 奥村尚子¹⁾, 荒木美穂²⁾, 青木雄也²⁾, 岩垣つぐみ²⁾, 上江洲浩一³⁾

1)家畜衛生試験場 2)中央家畜保健衛生所 3)沖縄県農業共済組合

【はじめに】

ボツリヌス症は *Clostridium botulinum* が産生する神経毒素により発症する。県内では 2013 年にサトウキビ給餌による牛ボツリヌス症が発生しており、今回カラス糞便からの感染が疑われる事例に遭遇したためその概要を報告する。

【発生概要】

2021 年 10 月に繁殖雌牛 17 頭を飼育する肉用牛繁殖農場で母牛 4 頭が食欲不振、活力低下、起立不能、平衡失調、低体温、流涎、露舌、口唇浮腫、第一胃運動停止、排便停止を呈し、3 頭が死亡したため病性鑑定を実施した(図 1)。

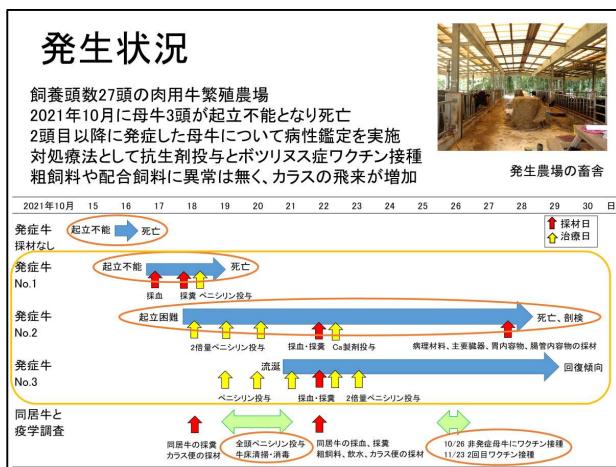


図 1

【材料と方法】

剖検は 3 頭目の発症牛(No. 2)について定法に従い実施した。細菌学的検査は発症牛(No. 2)の主要臓器を用いて定法に従い実施した。ボツリヌス毒素検査は 2 ~4 頭目の発症牛(No. 1~3)の血清及び直腸便、発症牛(No. 2)の第一胃内容物、第四胃内容物、小腸内容物、結腸内容物、同居牛 3 頭の直腸便の他、畜舎内の乾草、飲水、カラス糞便を用いて国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門の「C 型および D 型ボツリヌス症診断プロトコール」に従い実施した。病理組織学的検査は発症牛(No. 2)の主要臓器を用いて定法に従い実施した。血清生化学検査は発症牛(No. 1~3)と同居牛 6 頭について実施した。

【結果】

剖検では左後肢膝上骨格筋に出血、肺右葉にうつ血、肝臓に軽度腫脹、腎臓に白斑と出血斑が見られた(図 2)。細菌学的検査では有意菌分離陰性だった。ボツリヌス毒素検査では発症牛(No. 2)の直腸便と第一胃内容物、カラス糞便からボツリヌス D 型毒素(D/C モザイク型)が検出された。発症牛の血清や検体処理上清からボツリヌス毒素は検出されず、増菌培養液から毒素が検出された。毒素により死亡したマウスには腰部麻痺が見られ、毒素は D 型抗毒素血清で完全に中和されたが、C 型抗毒素血清でも部分的に中和されてマウスの致死時間が遅延した(図 3, 4)。病理組織学的検査では心臓や第一胃筋層に血管炎が見られ、心筋細胞の変性や壊死、膀胱粘膜下の出血が見られた。腎臓は髄質から皮質にかけてくさび状に尿細管変性や壊死が見られた(図 5)。血清生化学検査では発症牛(No. 2)に AST の上昇が見られた(図 6)。

剖検所見 (発症牛No. 2)

【経過】 10/18 起立困難、10/20 起立不能、10/28 死亡、剖検

【治療歴】 10/18~10/22

ペニシリン、デキサメタゾン、メチオニン製剤、Ca製剤

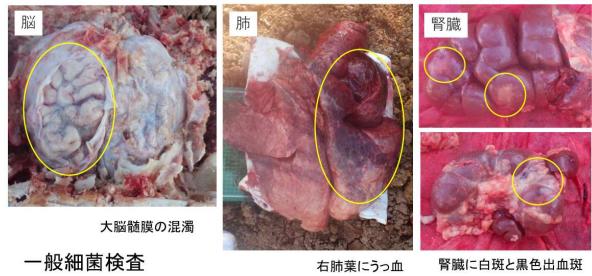


図 2

ボツリヌス毒素検査成績

①毒素検査(マウス接種法)

材料: 発症牛血清と検体処理上清
結果: 陰性
材料: 増菌培養液
結果: 陽性(右表参照)

【マウス接種法】

| 材料(培養液) | マウス症状 | 経過 | 判定 |
|----------------|-------|-----------|----|
| 発症牛No.2 第一胃内容物 | 腰痙攣 | 死亡(2h) | 陽性 |
| 発症牛No.2 直腸便 | 腰痙攣 | 死亡(4h) | 陽性 |
| 疫学調査 カラス便 | 腰痙攣 | 死亡(24h以内) | 陽性 |

②毒素型別(毒素中和法)

材料: 毒素陽性の培養液
結果: 陽性(右表参照)

【毒素中和法】

| 材料(培養液) | 最終希釈倍率 | コントロール | C型抗毒素抗体 | D型抗毒素抗体 | 判定 |
|----------------|--------|-------------------|---------|---------|----|
| 発症牛No.2 第一胃内容物 | 200倍 | 死亡(5h) (24h以内) | 生存 | D型 | |
| 発症牛No.2 直腸便 | 4倍 | 死亡(6h) (24h以内) | 生存 | D型 | |
| 疫学調査 カラス便 | 2倍 | 死亡 (24h以内) | 生存 | D型 | |

③分離培養

材料: 毒素陽性の培養液
結果: 陰性
(乳光反応示すグラム陽性芽胞菌の毒素遺伝子は陰性)

【毒素中和法】

| 材料(培養液) | 最終希釈倍率 | コントロール | C型抗毒素抗体 | D型抗毒素抗体 | 判定 |
|----------------|--------|-------------------|---------|---------|----|
| 発症牛No.2 第一胃内容物 | 200倍 | 死亡(5h) (24h以内) | 生存 | D型 | |
| 発症牛No.2 直腸便 | 4倍 | 死亡(6h) (24h以内) | 生存 | D型 | |
| 疫学調査 カラス便 | 2倍 | 死亡 (24h以内) | 生存 | D型 | |

毒素で死亡したマウスの腰痙攣
(後肢を伸ばした状態で死亡)
激しい腹部陥凹は確認されず



図 3

ボツリヌス毒素検査成績のまとめ

④PCRによる毒素遺伝子の検出と型別

- : 陰性 NT : 実施せず

| 検査材料 | 毒素遺伝子 | | 毒素検査 | | 毒素型別 |
|----------------|----------|----------|------|-------|---------|
| | 加熱培養液 | 非加熱培養液 | 検体上清 | 加熱培養液 | |
| 発症牛No.1 直腸便 | - | - | - | - | NT NT |
| 発症牛No.2 直腸便 | - | D/Cモザイク型 | - | NT | 陽性 D型 |
| 発症牛No.3 直腸便 | - | - | - | NT | - NT |
| 発症牛No.2 第一胃内容物 | D/Cモザイク型 | D/Cモザイク型 | - | 陽性 | 陽性 D型 |
| 発症牛No.2 第四胃内容物 | - | - | - | NT | - NT |
| 発症牛No.2 小腸内容物 | D/Cモザイク型 | - | - | NT | - NT |
| 発症牛No.2 組織内容物 | D/Cモザイク型 | - | - | NT | - NT |
| 同居牛 直腸便 | - | - | NT | NT | NT NT |
| 同居牛 直腸便 | - | D/Cモザイク型 | NT | - | NT NT |
| 疫学調査 カラス糞便 | D/Cモザイク型 | - | 陽性 | 陽性 | 陽性 D型 |
| 疫学調査 カラス糞便 | D/Cモザイク型 | - | NT | 陽性 | NT 型別不能 |
| 乾草 | - | - | NT | NT | NT |
| 飲水 | - | - | NT | NT | NT |

図 4

病理組織学的検査成績(発症牛No.2)

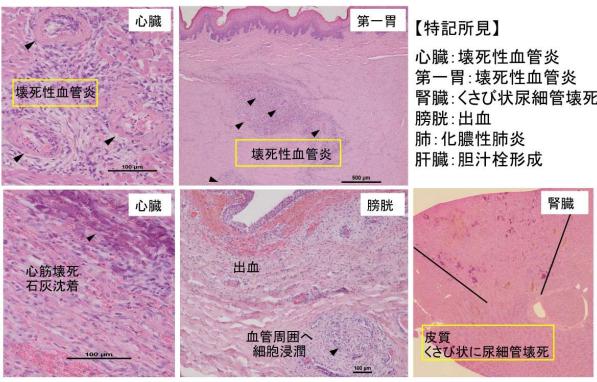


図 5

臨床症状と血清生化学検査成績

【臨床症状】

食欲不振、活力低下、起立不能
平衡失調、低体温(発熱なし)
流涎、露舌、口唇浮腫
第一胃運動停止、排便停止



発症牛(No.2)の起立不能

【血清生化学検査成績】

| 母牛 | 年齢 | T-cho (mg/dl) | GLU (mg/dl) | TP (g/dl) | ALB (g/dl) | AST (GOT) (U/L) | GOT (γ-GTP) (U/L) | BUN (mg/dl) | Cre (mg/dl) | Mg (mg/dl) | IP (mg/dl) | Ca (mg/dl) |
|-----------|--------|------------------|----------------|--------------|---------------|-----------------------|-------------------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
| 発症牛(No.1) | 2 | 82 | NT | 7.5 | 3.7 | 51 | 46 | 13 | 1.3 | 2.2 | 6.2 | 10.3 |
| 発症牛(No.2) | 3 | 92 | 95 | 10.9 | 4.0 | 493 | 53 | 9 | 1.5 | 2.0 | 5.1 | 18.7 |
| 発症牛(No.3) | 14 | 127 | 54 | 8.5 | 3.8 | 70 | 70 | 12 | 1.5 | 2.0 | 5.0 | 10.1 |
| 同居牛 | 3 | 72 | 41 | 8.9 | 2.9 | 67 | 24 | 8 | 1.2 | 2.0 | 7.5 | 11.2 |
| 同居牛 | 8 | 95 | 55 | 7.8 | 3.0 | 46 | 29 | 5 | 1.3 | 2.4 | 7.4 | 10.0 |
| 同居牛 | 4 | 74 | 38 | 6.9 | 3.2 | 94 | 27 | 7 | 1.1 | 2.2 | 7.4 | 10.8 |
| 同居牛 | 6 | 88 | 45 | 7.4 | 3.4 | 41 | 32 | <5 | 1.4 | 2.7 | 7.3 | 9.9 |
| 同居牛 | 8 | 98 | 44 | 8.1 | 3.2 | 93 | 38 | 5 | 1.0 | 2.2 | 5.2 | 9.7 |
| 同居牛 | 11 | 93 | 33 | 7.8 | 2.9 | 58 | 72 | <5 | 1.0 | 2.3 | 7.1 | 9.3 |
| 繁殖母牛 | 71~140 | 45~75 | 6.5~7.5 | 3.2~3.9 | 45~84 | 12~32 | 10~20 | 1~2 | 1.8~3.2 | 4~8 | 8.5~12 | |
| 正常値 | | | | | | | | | | | | |

図 6

【まとめ及び考察】

本事例では発症した4頭中1頭からボツリヌスD型毒素(D/Cモザイク型)が検出され、発生状況や疫学状況を含めて牛ボツリヌス症と診断した。また畜舎内のカラス糞便からD型毒素(D/Cモザイク型)が検出されており、発症に関与したと考えられた。牛はボツリヌス毒素に感受性が高く、発症すると急性に病態が進行するため治療や診断が難しいが、本事例では早期対処療法と緊急ワクチン接種を実施しており4頭目以降の発症は見られなかった。ワクチン接種は発症予防に効果的だが、*C. botulinum*の感染は防げないため、本症の感染予防には畜舎内の清掃や消毒の徹底とカラスなど野生動物の侵入防止対策が重要である。