

# 破傷風菌の関与が疑われた病性鑑定事例

中央家畜保健衛生所

○本多 芙友子 松本 敦子

畜産課

橘 美奈子

## 要 約

令和3～4年度に診療獣医師が破傷風を疑った肉牛3例及び山羊1例について病性鑑定を実施した。すべての症例で強直性けいれん等破傷風特有の神経症状がみられたものの、創傷部位は痂皮化あるいは不明のため直接鏡検による菌体の確認はできず、かつ病理検査で著変が認められなかった。菌分離を実施した肉牛1例では、分離菌から破傷風菌毒素産生遺伝子は検出されず。マウス接種試験で特異的症状がみられた肉牛2例を破傷風、症状がみられなかった肉牛1例と山羊1例は本病の疑いと診断した。破傷風は、疫学情報および臨床症状で診断可能だが、創傷部の特定が困難等判断が難しい場合、類症鑑別および確定診断するためには各種検査が必要となる。以上のことから、破傷風を疑う臨床症状がみられた時点で続発防止の対策を講じ、並行して各種検査を進めていくことが重要である。

## はじめに

破傷風は、破傷風菌 (*Clostridium tetani*) が産生する神経毒素によって全身性の強直性けいれんや持続的な緊張をきたす致死性の疾患で、人獣共通感染症としても知られている<sup>3)</sup>。破傷風菌はグラム陽性端在性芽胞を持つ桿菌で、偏性嫌気性であるため、芽胞の状態で土壤中に広く生息している。家畜では、分娩や去勢、断尾等の手術において傷口から感染することが多く、近年、家畜においては全国で年間100件前後が届出されている<sup>1)</sup>。

破傷風は、嚥下困難、流涎、牙関緊急、全身性強直性けいれん、後弓反張、木馬様姿勢等の神経症状により診断することは可能である。また、農場の過去の破傷風発生歴、ワクチン接種の有無および創傷の有無等の疫学調査も診断において重要である。一方で、創傷部の特定ができない等判断が難しい場合、類症鑑別及び確定診断するためには各種検査が必要となる。

今回、診療獣医師が破傷風を疑い病性鑑定を実施し、診断に際し苦慮した4症例について報告する。

## 材料及び方法

### 1 発生の概要

#### (1) 症例1

肥育250頭規模農場で、7か月齢育成牛が突然けいれん、後弓反張し急死した。治療歴は無く、発症15日前に潜在精巢の手術をしていた。

#### (2) 症例2

肉牛一貫350頭規模農場で、12日齢子牛が後肢硬直、牙関緊急、木馬様姿勢を呈しているとの稟告があり、病性鑑定のため鑑定殺した。臍帯部にこぶし大の腫瘍が認められた。

#### (3) 症例3

5頭飼育の山羊飼育場で、1か月齢子山羊が体のこわばりと後肢硬直を呈し、診療獣医師が破傷風トキソイドを投与したが翌日死亡した。子山羊は発症2週間前に除角しており、同日に除角した別の個体も歩様不良を呈し後日死亡した。

#### (4) 症例4

肥育1,300頭規模農場で、11か月齢育成牛が起立不能で加療するも改善がみられず、後肢・尾の硬直、開口困難、後弓反張を呈しているとの稟告があり、病性鑑定のため鑑定殺した。手術歴は無く、背部に古い擦傷のみ認められた。すべての症例において、破傷風ワクチンは未接種であった。また、症例2以外は同居家畜に異常は認められなかった。

## 2 病理学的検査

剖検後、採取した臓器を、10%中性緩衝ホルマリンで固定し、常法に従いパラフィン包埋、ヘマトキシリン・エオジン染色及びグラム染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

## 3 細菌学的検査

### (1) 一般細菌検査

無菌的に採材した鑑定畜の臓器等を5%馬血液

加トリプトソイ寒天培地及び DHL 寒天培地に直接塗抹し、37°C一晩又は 48 時間好気培養した。分離された細菌については、生化学的性状検査及び種同定キット (ID テスト・HN-20 ラピッド: ニッスイ) を用いて菌種を同定した。

## (2) 破傷風菌検査

### a 破傷風毒素検出試験 (マウス接種試験)

鑑定畜の血清を被験マウスの左背側後肢に皮下接種し、3 日間、破傷風毒素特異的症状 (死亡、体躯の屈曲、下肢の強直性けいれん) の有無を観察した。なお、症例 3 については同居山羊の血清を材料とした。

### b 破傷風菌培養検査

創傷部位が特定できた症例 1 及び 2 のみ実施した。症例 1 の潜在精巢術後創傷部および症例 2 の臍帯部及び臍静脈について、直接鏡検で菌体を確認するとともに、同部位をクックドミート培地 (CMM) で 37°C4 日間培養後、培養物を 5%馬血液加 GAM 寒天培地 (HGAM) に画線し 37°C一晩培養して、遊走コロニーの有無を確認した。遊走コロニーについては、グラム染色で菌体を確認するとともに InstaGeneDNA 精製マトリックス (BIO-RAD) を用いて DNA を抽出し *Clostridium tetani* 毒素産生遺伝子を標的とした PCR 法を実施した。

### c 破傷風毒素遺伝子の検出

症例 2 の臍帯部及び臍静脈について 5 日間 CMM で培養後、ブレインハートインフュージョン液体培地に接種し 37°C4 日間培養した上清、及び同部位の 10%PBS 乳剤から InstaGeneDNA 精製マトリックス (BIO-RAD) を用いて DNA を抽出し *Clostridium tetani* 毒素産生遺伝子を標的とした PCR 法を実施した。

## 4 生化学的検査

症例 2 及び 4 について、鑑定畜の血清を用いて血液一般検査及び血液生化学検査を行った。

## 成績

### 1 臨床症状

症例 1、3 は死体で搬入され、外貌としては後肢硬直、特に症例 1 は後弓反張、尾の硬直が認められた。症例 2、4 は生体で搬入され、後肢及び尾の硬直、後弓反張、牙関緊急など強直性けいれんを呈していた (写真 1)。

### 2 病理学的検査

#### (1) 剖検所見

症例 1: 腹部手術痕の皮下に線維化硬結部位が単在し、内側に赤色の線維素が貯留していた。

症例 2: 肝臓の左葉及び方形葉に主座した乳白色 5 mm 大球形病変が多発していた。また、臍静脈は肥厚し、臍帯部位では管腔に黄白色チーズ様膿が貯留していた。

症例 3: 肺及び腎臓の右側の暗赤色化、脳脊髄液の軽度白色混濁がみられた。

症例 4: 肝臓は軽度黄染、退色していた。

## 剖検



写真 1 剖検写真

### (2) 組織所見

症例 1: 著変無し。

症例 2: グラム陰性桿菌を伴った壊死性臍静脈炎および多発性化膿性肝炎が認められた。

症例 3: 著変無し。

症例 4: 肝臓に小葉中心性空胞変性が認められた。

## 3 細菌学的検査

### (1) 一般細菌検査

好気培養で、すべての症例で有意菌は分離されなかった (表 1)。

### (2) 破傷風菌検査

#### a 破傷風毒素検出試験 (マウス接種試験)

症例 1 及び 2 でマウスが特異的症状を呈した。

症例 1 では接種した 3 匹中 2 匹で接種後 1 日目に右側腹部膨満、2 日目に体躯及び尾の左側屈曲、左後肢強直性けいれんがみられ、5 日目及び 6 日目にそれぞれ死亡した。症例 2 は接種したマウス 3 匹とも接種後 2 日目に右側腹部膨満、4 日目に尾の左側屈曲がみられた。マウスの死亡はみられなかった。

#### b 破傷風菌培養検査

直接鏡検で菌体はみられなかった。菌培養では症例 2 でグラム陽性端在性芽胞の太鼓ばち様菌体が分離されたが、遺伝子検査で破傷風菌毒素産生遺伝子の増幅は認められなかった。

#### c 破傷風毒素遺伝子の検出

破傷風菌毒素産生遺伝子の増幅は認められなかった。

表 1 細菌検査結果

細菌検査結果					
		症例 1	症例 2	症例 3	症例 4
好気培養		有意菌なし			
破傷風毒素検出試験 (マウス接種試験)		特異的症状あり (2/3匹)	特異的症状あり (3/3匹)	症状なし	症状なし
破傷風菌培養検査	直接鏡検	菌体なし	菌体なし	NT	NT
	菌分離	分離菌なし	グラム (+) 端在性芽胞の太鼓ばち様菌体遊走性 (+)	NT	NT
	遺伝子検査	NT	検出されず	NT	NT
破傷風毒素遺伝子検査		NT	検出されず	NT	NT

※NT:検査未実施

#### 4 生化学的検査

症例 2 で好中球数増加及び  $\gamma$  GTP の高値がみられた。症例 4 で BUN、Cre、AST、T-bil の高値、T-cho の低値が認められた (表 2)。

表 2 検査結果のまとめ

結果					
		症例 1	症例 2	症例 3	症例 4
神経症状		あり	あり	あり	あり
外傷等		手術痕	臍帯部化膿	除角部分 (痂皮化)	背部の擦傷 (痂皮化)
病理検査		神経症状を示唆するような所見無し	神経症状を示唆するような所見無し	神経症状を示唆するような所見無し	神経症状を示唆するような所見無し
細菌検査	毒素検出	+	+	-	-
	菌分離	-	+	-	-
生化学検査		未実施	好中球数増加 $\gamma$ -GTP高値	未実施	低値: T-cho 高値: BUN、Cre、AST、T-Bil、 $\gamma$ -GTP、血中NH <sub>3</sub>

#### 診断及び考察

4 症例のうち症例 1 及び 2 は臨床症状及び細菌検査の結果から破傷風と診断した。一方で、マウス接種試験で毒素検出がされず、創傷部位が痂皮化し細菌培養検査ができない症例 3 及び 4 については、特徴的な神経症状がみられたものの破傷風を裏付ける結果が得られなかった。

類症鑑別としては、神経症状を呈する低マグネシウム血症等の代謝性疾患、リステリア症、ヒストフィルス・ソムニ感染症、大脳皮質壊死症のほか、嚥下障害を呈するブルータンク、イバラキ病が挙げられるが、病理学的検査で病変が認められないこと、細菌の関与が認められないこと、また特徴的な臨床症状を呈していたが同居家畜には症

状が見られなかったことから、破傷風が疑われた。

破傷風毒素は多くの哺乳動物に感受性を示し、馬、人が最も高感受性といわれ、牛は比較的感受性が低いといわれるが、馬ではワクチン接種が普及しており、近年の国内発生の主流は牛である。本病は、疫学調査と臨床症状から判断ができる場合は診断することのできる疾病である<sup>6)</sup>が、判断がつかない場合に細菌検査のみで病性鑑定を進めるため、特に培養検査で菌分離ができない場合は確定診断が困難となる。また、培養やマウス接種試験には時間を要するため、破傷風を疑う臨床症状がみられたら速やかに対応する必要がある。

破傷風の対策として、まず破傷風トキソイドワクチンの接種があげられる。破傷風は血中に十分な抗毒素抗体があれば発症を防げる感染症である<sup>4)</sup>。一方で、破傷風は極微量の毒素で発症するため、血清中の抗体が上昇することは無いといわれている<sup>2)</sup>。過去に発生経験を持つ農場においては、土壌中に破傷風菌が存在している可能性が高いと考えられ、再感染や再発の防止にはワクチン接種が推奨される。また、飼養環境や管理器具 (除角、去勢、断尾器具) の定期的な消毒も、創傷部からの感染を予防する上で必要不可欠である。また、破傷風菌は嫌気性菌であることから、創傷部を開放創として消毒・洗浄し、嫌気状態としないことも重要である。

発症した場合の治療には、破傷風抗毒素血清の大量投与、ペニシリンの高濃度長期間の投与等の知見がある<sup>2)</sup>。抗毒素血清は神経終末に結合していない毒素を中和できるが、すでに結合している毒素については中和できないとされている。いずれにしても早期診断及び早期治療が必要である。

今回報告した 4 症例は、幼獣～育成期であり、いずれも侵入経路は術部あるいは創傷部であると考えられたが、成牛では分娩後の子宮内感染で発症した事例もあるため、産褥期の管理においても注意が必要である<sup>5)</sup>。

破傷風は国内の牛で年間約 100 件、特に九州・沖縄地方では年間数 10 件の届出がある<sup>1)</sup>。件数としては少ないものの、現在も発生しうることから過去に発生した地域や農場に限らず、破傷風を疑う症状がみられた場合の体制を整える必要がある。

#### 参考文献

- 1) 農林水産省: 監視伝染病発生年報 (令和 2~4 年次)
- 2) 外村順一: 牛破傷風の診断と治療の基本原則:

20 症例からの検討, 臨床獣医(2019)

- 3) 高井伸二:牛の破傷風, 牛病学<第三版>(2013)
- 4) 内田嗣夫, 大西孝ら:成牛における破傷風が疑われた症例, 臨床獣医(2003)
- 5) 山本 伸治, 佐藤 東:黒毛和種繁殖雌牛に発生した破傷風事例,第 57 回福島県家畜保健衛生業績発表会集録(2017)
- 6) 全国家畜衛生職員会:病性鑑定マニュアル第 4 版