

推奨研究

牛ボツリヌス症の集団発生について

門脇文生¹⁾ 村上千里¹⁾ 小笠原剛士¹⁾ 河野信嗣¹⁾山里比呂志²⁾ 井上真寛²⁾ 中村耕太郎²⁾

1) NOSAI 鳥取 家畜診療所本所

2) 倉吉家畜保健衛生所

(〒 689-2221 鳥取県東伯郡北栄町由良宿 2034-3)

(e-mail : kadowaki_f@tottori-nosai.jp)

【要約】

一酪農家で、後躯麻痺を主徴とする起立不能が集団発生した。内訳は、35 頭が発症し 34 頭が死亡または廃用となった。低体温、沈鬱、歩様異常、後躯麻痺による起立不能を呈し、消化管粘膜の充出血が認められた。小腸内容、糞便、TMR、ラップサイレージから *Clostridium perfringens* A 型菌が分離されたため、エンテロトキセミアを疑い対策を講じたが、抗毒素で中和されなかったためエンテロトキセミアは否定された。その後の検査で、1 頭の小腸内容および TMR から *Clostridium botulinum* D 型菌毒素の存在が証明されたこと、また特徴的な運動麻痺を主徴とする臨床症状を示したことから、牛ボツリヌス症と診断した。

【キーワード：後躯麻痺、神経症状、ボツリヌス毒素、ボツリヌス菌】

【緒言】

ボツリヌス症は *Clostridium botulinum* (以下 *C. botulinum*) が産生する神経毒素を摂取することにより、特徴的な神経症状を示し、急性経過で死亡または廃用の転帰をとる疾病である [2]。産生される毒素は A,B,C α , C β , D,E,F,G の 8 タイプがあり、牛で報告されているのは B,C,D 型である [5]。

日本では、平成 6 年に北海道で初めて発生 [7, 8] して以来、全国各地で散発している [4, 9-11]。今回、我々の診療所管内の一酪農家において後躯麻痺を主徴とする起立不能が集団発生し、死亡または廃用するという事態に遭遇した。病性鑑定の結果 *C. botulinum* の産生する D 型毒素による牛ボツリヌス症と診断したのでその概要を報告する。

【材料および方法】

発生農場

発生農場は、平成 17 年 3 月に公社営事業で規模拡大し、ベッド数 140 床のフリーストール牛舎で成乳牛 130 頭、育成牛 35 頭、肥育素牛 80 頭を飼養する複合経営の酪農家である。自給飼料は公社営事業により拡大した飼料畑の 13 ha で、春にイタリアンライグラス、夏に水田ミレットを作付けしている。収穫後、ラップサイレージに調整して TMR で給餌を行っている。

発生経過

平成 17 年 12 月 9 日、突然 1 頭が起立不能に陥り翌日斃死した。その後、数頭が起立不能

となった。低体温、沈鬱等の症状から低Ca血症を疑い、Ca剤や補液等で加療を行ったが効果はなかった。検査の結果、血清Ca値は正常値であった。12月12日にはこのうち3頭が斃死し、新たな発症があったため、何らかの伝染性疾患を疑い、同日、倉吉家畜保健衛生所に病性鑑定を依頼した。その後も次々と起立不能牛が発生し、発症頭数が35頭に達した。内訳は死亡24頭、廃用10頭、軽症で治癒した牛1頭であった(表1)。非妊娠の高泌乳牛で発生率が高かった(表2)。また、ラップサイレージを給与していない乾乳牛に発生はなかった。

[成績]

臨床所見

ほとんどの牛で体温(36.6~37.8℃)、心拍数(50~80回/分)、皮温がそれぞれ低下し、後躯麻痺による起立不能に陥り、開脚姿勢を呈した。重篤症状の牛は四肢伸張し横臥状態で、沈鬱、開口腹式呼吸にて数日で死に至った。初診時に歩様蹠踏とするなど異常が認められた軽症の牛でも、しだいに起立不能となった。

便の性状は、やや硬化した正常便で、横臥し沈鬱症状の牛を除き食欲は認められた(写真

表1 発生状況

月日	発症数	死亡産廃	死亡家保	鑑定殺家保	廃用	治癒
12/9	1					
10	1	1				
11	9					
12	5		3			
13	4		1	2		
14	3					
15	1		1	2		
16	2					
17	5		6			
19			3		2	
20	2				4	
21			2	3	2	
24	1					
27	1					
28					2	1
合計	35	1	16	7	10	1

1, 2)。

血液検査所見

表3に血液検査成績を示した。

白血球数の増加、T-Cho、CK、Glu値の上昇を認めた。ASTもCKの上昇に伴いやや上昇していた。Ca、iP、Mgなどの血清無機質は正常値であった。

病理検査所見

解剖所見は、ほとんどの牛で第四胃粘膜および小腸粘膜の充出血が認められたが、その他に特徴的な所見は認められなかった(写真3, 4, 5)。

組織学的所見は、消化管粘膜下組織の小~中動脈に血管内皮の腫大、赤血球漏出、好酸性化、フィブリノイド変性、炎症性細胞浸潤などの血管病変が認められた(写真6)。

細菌検査所見

Clostridium perfringens (以下 *C. perfringens*) が死亡牛の小腸内容、発症牛の糞便、TMR およびラップサイレージから分離された。

脳およびその他の主要臓器からは有意菌は

表2 乳量別発症頭数(11月乳検)

日量	頭数	発症率(%)
20kg未満	1/6	16.7
20~40kg	27/109	24.8
40kg以上	5/8	62.5

表3 血液検査成績

項目	検査値(平均±SD)	単位
Ht	37±3	%
WBC	12,684±3,116	/μL
T-cho	310±75	mg/dL
AST	140±71	IU/L
GGT	32±13	IU/L
CK	1,442±779	IU/L
Glu	107±32	mg/dL
Ca	9.1±0.6	mg/dL
iP	5.4±1.3	mg/dL
Mg	2.5±0.2	mg/dL

検査頭数: 13

表 4 細菌検査成績

分離菌	検査材料	分離菌数
<i>C. perfringens</i>	死亡牛小腸内容	10 ³ ~10 ⁸ CFU/g
	(主要臓器、脳、リンパ節からは菌分離陰性)	
	発症牛糞便	10 ³ ~10 ⁸ CFU/g
	TMR	1.6×10 ⁴ CFU/g
	ラップサイレージ	4.0×10 ³ ~8.0×10 ⁴ CFU/g
<i>C. botulinum</i>	菌分離陰性	
<i>C. bifermentans</i>	ラップサイレージ	6.0×10 ² ~1.4×10 ⁵ CFU/g
	圃場 (11/13)	同定試験にて確認

分離されなかった。

C. botulinum はいずれの検体からも分離されなかった。

ラップサイレージおよび圃場から、土壌細菌である *Clostridium bifermentans* (以下 *C. bifermentans*) が分離された (表 4)。

毒素検査

死亡牛の小腸内容から PCR で *C. perfringens* A 型毒素遺伝子を確認したが、中和試験において A 型抗毒素で中和されなかった。

死亡牛 1 頭の小腸内容および TMR から PCR で *C. botulinum* D 型毒素遺伝子を確認し、中和試験において D 型抗毒素で中和された。

【考察】

発生当初、体温および皮温の低下や沈鬱、起立不能などの臨床症状から、低 Ca 血症を疑い Ca 剤の投与を行ったが反応なく、血液検査においても血清 Ca 値に異常は認められなかった。我々は平成 16 年度に管内の他農場でエンテロトキセミアによる起立不能牛の集団発生を経験していたため、発症牛の増加により、これを疑い病性鑑定を依頼したところ、*C. perfringens* が飼料および小腸内容から分離された。そのため以下のようなエンテロトキセミア対策を講じた。

平成 17 年 12 月 13 日全頭に抗生物質 (アンプシリン Na) の投与を行った。12 月 15 日よりラップサイレージの給与を中止し、12 月



写真 1 後軀麻痺による開脚姿勢



写真 2 四肢伸張し横臥状態



写真 3 第 4 胃粘膜の充出血

16 日腸内細菌叢のバランスを改善する目的で TMR へ生菌剤 (ピオスリーエース; 東亜薬品工業) および木酢酸炭化粉末 (ネッカリッチ; 宮崎みどり製薬) の添加を開始。12 月 17 日には牛舎の一斉消毒を行った。12 月 21 日全頭に牛クロストリジウム感染症 5 種混合ワクチンの接種を行った。

エンテロトキセミアは *C. perfringens* の毒



写真4 小腸の充出血

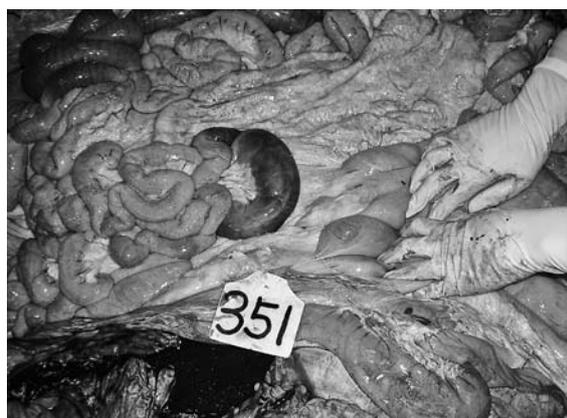


写真5 小腸の充出血

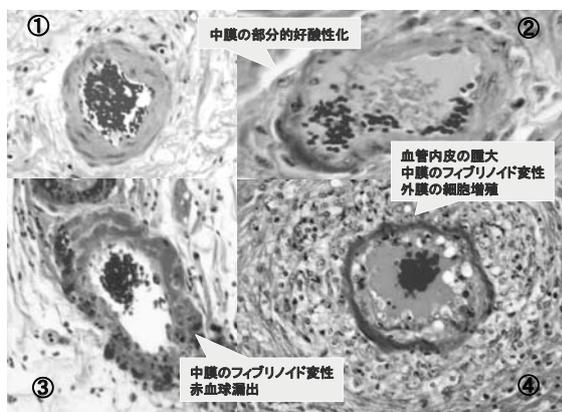


写真6 消化管粘膜下組織の血管病変

素により出血性下痢や天然孔からの出血などの、腸の出血性壊死性病変を起こして急死する疾病である [1, 6]。本症例は第4胃および小腸粘膜の充出血は認められたが、血様内容物はなかった。また *C. perfringens* A型毒素遺伝子は確認できたが、抗毒素で中和されなかったことから、毒素の存在が確認できず、エンテロトキセミアはこの時点で否定された。

その後の検査で菌分離はできなかったが、死亡牛1頭の小腸内容およびTMRから *C. botulinum* D型毒素の存在が確認された。この検査結果と、後躯麻痺等の特徴的な臨床症状から牛ボツリヌス症と診断した。*C. botulinum* は菌分離が困難とされており [2]、過去の例でも分離されていない [4, 7-11]。また、剖検所見、病理組織学的所見および血液生化学的所見にも特徴を認めないとされている [2, 7-9, 11]。本症例での第4胃および小腸粘膜の充出血は、*C. perfringens* の関与があったと思われる。

ボツリヌス症の主要症状は、進行性の運動および筋肉麻痺、舌麻痺、咀嚼・嚥下困難とされている [2, 5]。今回、食欲は認められ、舌麻痺、咀嚼・嚥下困難の症状は確認されなかった。神奈川 [9, 11]、鹿児島 [10] のD型毒素の例でもこれらの症状は認められず、北海道 [7, 8] のC型毒素の例では認められていることから、咀嚼・嚥下困難はC型毒素の特徴ではないかと推測される。

TMRから毒素が検出されたが、飼料を1日2回調整するミキサー内で菌が増殖したと考えるには、時間的に十分ではなく可能性が低い。また、ラップサイレージを給与しない乾乳牛は発症しなかったこと、ラップサイレージ中に土壌混入を認め、土壌細菌である *C. bifermentans* が圃場およびラップサイレージから分離されたこと、*C. botulinum* は偏性嫌気性有芽胞菌で土壌中に広く分布すること [3] などから、在庫のラップサイレージでは毒素が検出できなかったが、発症前に給与した一部のロット内で *C. botulinum* が増殖し、毒素を産生したと推測される。高泌乳牛を中心に発症した原因として、毒素に汚染されていたTMRをより多く摂取したこと、また平成17年は例年になく12月初旬に非常に強い寒波が訪れたことなどのストレスが重なり、発症の引き金とな



写真7 根および土壌が混入したラップサイレージ



写真8 ロット番号をつけたラップサイレージ

ったと考えられる。

ラップサイレージ内への土壌混入の原因は、夏草の播種から刈り取りまでの期間が約3ヶ月と短期間であるため、根の張りが弱く、また圃場を拡大したことで刈り取り作業が雑になり、無理な刈り取りとなったため、部分的に根こそぎ収穫し（写真7）、テッターレーキでの反転時にもかなり土壌を巻き上げたためと推測された。対策として次年度からは、モアでの刈り取り速度に注意すること、テッターレーキの使用を中止し土壌混入を防止すること、発酵を促進するために乳酸菌を添加し、収穫されたラップサイレージは圃場別にロット番号をつけ（写真8）、給与前に細菌数とクロストリジウムの定性試験を実施することにした。平成18年に収穫されたラップサイレージは一部に土壌混入が見られたものの、クロストリジウムは検出されていない。今後も検査は継続する予定であ

る。

稿を終えるにあたり、ボツリヌス毒素の検査をしていただいた大阪府立大学獣医感染症学研究室 小崎俊司教授に深謝いたします。

【引用文献】

1. 安里 章. 2001. 家畜疾病総合情報システム監視伝染病診断指針 牛編、日本獣医師会、東京、149-150.
2. 安里 章：2001. 家畜疾病総合情報システム監視伝染病診断指針 牛編、日本獣医師会、東京、152-153.
3. 浜岡隆文. 1999. 獣医感染症カラーアトラス、見上彪、丸山務監修、文永堂出版、東京、328-330.
4. 萱原佳美、花尾真明. 1999. 平成11年度岡山県家畜保健衛生業績発表会集録、71-73.
5. 小岩政照. 2002. 新版主要症状を基礎にした牛の臨床、前出吉光 小岩政照監修、デイリーマン社、札幌、484-485.
6. 小岩政照. 2002. 新版主要症状を基礎にした牛の臨床、前出吉光 小岩政照監修、デイリーマン社、札幌、708 - 709.
7. 三上祐二、高久英徳、田口雅持ら. 1994. 平成6年度北海道家畜保健衛生業績発表会集録、63-70.
8. 中島義之、加藤肇、中本慎二ら. 1995. 家畜診療、309：13-16.
9. 仲沢浩江、池田暁史、近田邦利ら. 2000. 平成12年度神奈川県家畜保健衛生業績発表会集録、41-45.
10. 白井彰人. 2006. 家畜衛生研修会抄録集、30：48.
11. 米持 修、池田知美、浅川祐二ら. 2004. 平成16年度神奈川県家畜保健衛生業績発表会集録、54-59.

An Outbreak of Bovine Botulism

Fumio Kadowaki¹⁾, Chisato Murakami¹⁾, Tsuyosi Ogasawara¹⁾, Shinji Kono¹⁾, Hiroshi Yamasato²⁾, Masahiro Inoue²⁾ and Kotaro Nakamura²⁾

1)Veterinary Clinic Head Office, Tottori P.F.A.M.A.A

2)Kurayoshi Livestock Health and Hygiene Center

Yurashuku 2034 - 3, Hokuei, Tohaku - Gun, Tottori 689 - 2221

(e - mail: kadowaki_f@tottori - nosai.jp)