

21 破傷風（牛・馬）〔届〕

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --> B["(+)"] A --> C["(-)"] D["(2) 臨床検査"] --> E["(死亡牛、鑑定殺牛)"] E -.-> F["(3) 剖検"] F -.-> G["(創傷部、術創等病変部)"] C --> G G -.-> H["(4) 簡易細菌検査"] B --> I["(+)"] H --> J["<直接鏡検>"] J --> K["(5) 細菌培養試験"] K --> L["<増菌・分離培養>"] L --> M["(6) PCR"] M --> N["(7) 動物接種試験"] N --> O["(+)", "(-)"] O --> P["(+)", "(-)"] I --> P </pre>
病性鑑定施設	
判定・結果	<p>(+) (+) (-)</p>
最終判定	<p>疫学調査、臨床検査の結果により判断できる場合は、本病と診断する。判断が難しい場合は、病変部の簡易細菌検査、PCR等の結果に基づき判断する。</p>
その他	<p>PCRや動物接種試験は、破傷風毒素の有無や活性を確認するため、状況に応じて実施する。</p>

→類似疾病検査

- ① 179 低マグネシウム血症 ② 181 ケトーシス(神経型) ③ 141 流行性脳炎(日本脳炎)

○ 病原体: *Clostridium tetani*

(1) 疫学調査

- ① ワクチン接種の有無
- ② 発生農場の過去における発生歴
- ③ 創傷、去勢、除角、断尾(めん羊)など外科的処置、分娩・出生後間がない。
- ④ 畜舎内外の土砂を移動したことがある。
- ⑤ 年齢を問わず発生する。

(2) 臨床検査

- ① 食欲はあるが嚥下困難、流涎を認める。
- ② 歩様強拘
- ③ 刺激を与えると頸部から後部に波及する全身の強直性痙攣を示す。
- ④ 鼻孔開張、牙関緊急、開張姿勢(木馬様姿勢)、後弓反張
- ⑤ 馬では第三眼瞼(瞬膜)の露出および耳翼佇立
- ⑥ 牛の破傷風は馬の場合より緩慢な症状を示す。
- ⑦ 死後に体温が上昇することがある。

(3) 剖 検

死亡牛では必要に応じて剖検を実施する。

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

原因菌は感染巣に限局、創傷部、術創が確認された場合には病変部の直接塗抹標本をグラム染色またはギムザ染色し、太鼓バチ状、ラケット状の芽胞菌を確認する。

(5) 細菌培養試験(増菌・分離培養)

(増菌培養)

- ① 検体(組織片等)1gを細切して、予め脱気した(100℃、5分程度加熱後、氷水中で急冷)クックドミート培地などへ投入、37℃、48～72時間培養
- ② 菌の発育を認めた場合、グラム染色により特徴的な太鼓バチ状、ラケット状の芽胞菌を確認す

るか、PCR、動物接種試験等の手法で破傷風菌あるいは破傷風毒素の存在を推定し、分離培養を試みる。

(分離培養)

- ① GAM 寒天培地など嫌気性菌用寒天培地の斜面培地の底部、平板培地の辺縁部に増菌培養菌液あるいは、直接塗抹材料を接種し、嫌気ジャー法等により 37℃、24 時間嫌気培養をする。
- ② 斜面培地上部、あるいは平板培地辺縁部対極から強遊走菌を分離し、形態等により同定する。
- ③ 感染巣が不明の場合には分離培養は困難

(6) P C R

- ① 増菌培養液、あるいは分離株の同定に破傷風毒素遺伝子を標的とする PCR¹⁾ が有効である。
- ② 分離株の場合には毒素遺伝子脱落株が高頻度に派生する株も報告されており、できるだけ継代しないこと、および複数の株を検査することを心がける。

(7) 動物接種試験

病原診断すなわち組織材料、増菌培養液中に破傷風菌が含まれるか否かを確認するために有効であるが、PCR で代替可能である。

- ① 1%グルコース加クックドミート培地で、37℃、48～72時間培養する。
- ② 培養液をマウス後肢筋肉内に 0.1ml 接種し、3日間強直等の特徴的臨床症状の発現と生死を観察する。
- ③ マウスは系統、性別、年齢を選ばない。

その他:

(参考)

破傷風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、山羊がそれに次ぐ。牛は比較的感受性が低いといわれるが、現在では国内発生の主流は牛である。診断方法はいずれも共通である。

(参考文献)

- 1) Plourde-Owobi, L., et al.: Appl. Environ. Microbiol. 71, 5604-5606 (2005).