

ツベルクリン反応陽性牛からのMycobacterium kansasiiの 分離

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
巻/号	361
掲載ページ	p. 25-28
発行年月	1983年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ツベルクリン反応陽性牛からの *Mycobacterium kansasii* の分離

桜井健一*¹⁾ 井上 勇*¹⁾ 斉藤憲彦*¹⁾ 松岡俊和*¹⁾ 栗原富男*¹⁾ 柚木弘之*²⁾

(昭和 57 年 7 月 23 日受理)

Isolation of *Mycobacterium kansasii* from Non — Visible Lesion Reactors
KENICHI SAKURAI (Omiya Livestock Hygiene Service Center, Omiya, Saitama 330) et al.

SUMMARY

Four cows slaughtered as infected with tuberculosis were examined histopathologically and bacteriologically in Saitama Prefecture in 1980. All of them were non-visible lesion reactors, but *Mycobacterium kansasii* were isolated from one of them. This organism was first isolated from cows in Japan. A stronger reaction to mammalian tuberculin than to avian tuberculin was presented by guinea pigs sensitized with *M. kansasii*. Guinea pigs sensitized with *M. kansasii* and *M. tuberculosis* showed the same reaction to mammalian tuberculin as to avian tuberculin. Therefore, a cross-reaction between both organisms was suggested.

要 約

昭和 55 年、埼玉県下において 4 頭のツベルクリン反応陽性淘汰牛について、病理学的、細菌学的検索を実施した。その結果、全例に結核結節は認められず結核菌陰性のいわゆる無病巣反応牛であったが、1 頭の肺門リンパ節から *Mycobacterium kansasii* が分離された。本菌の牛からの分離はわが国初めてである。本菌の性状は、遅発育菌で光発色性、亜テルル酸塩還元は陰性、カタラーゼ半定量は強陽性、硝酸塩還元、ツイーン水解およびウレアーゼは陽性、ナイアシンは陰性等であった。

また、本菌感作モルモットに対する哺乳型ツと鳥型ツの反応性を調べたところ、鳥型ツにくらべて哺乳型ツに強い反応がえられた。さらに、本菌と結核菌感作モルモットに対する哺乳型ツの反応は同程度で両菌間に交差反応が認められたことから、本牛は *M. kansasii* の感染が無病巣反応牛の原因として考えられた。菌分離陰性の 3 頭については、本反応の原因は明らかではなかった。

わが国の牛結核については、過去にしばしば集団発生がみられ、多大の損害をこうむってきた。しかし、最近では牛結核の清浄化が進み、ツベルクリン(以下ツと略)反応陽性淘汰牛は年々減少し、現在では年間 100 頭以下となっている。しかも、これら淘汰牛のほとんどが無病巣反応牛で、その原因のひとつとして非定型抗酸菌の関与が考えられ、これら抗酸菌の病原学的役割について多くの関心がよせられている。わが国では、非定型抗酸菌として根本ら⁹⁾が無病巣反応牛から *Mycobacterium avium* を、SHIMIZU ら¹⁰⁾が *Mycobacterium gordonae* 様菌を分離し報告している。われわれは、昭和 55 年埼玉県内で 4 頭のツ反応陽性淘汰牛について病理学的・細菌学的検索を行ったところ、いずれも無病巣反応牛であったが、

1 頭から *Mycobacterium kansasii* (以下、*M. kansasii* と略) が分離された。これは、わが国の牛から本菌が分離された最初の例である。ここでは、本菌の分離概要ならびに本菌感作モルモットに対する哺乳型ツと鳥型ツの反応性をしらべたので、その成績について報告する。

1. 材 料 と 方 法

1) 検 査 牛

ツ反応陽性牛は、A 農家の 3 頭と B 農家の 1 頭で、いずれも北海道から導入された 8~9 才のホルスタイン雑種である。

2) ツベルクリン検査

A 農家では、昭和 54 年 12 月 7 日と 55 年 1 月 31 日の 2 回、B 農家では、昭和 54 年 11 月 30 日、55 年 3 月 31 日および 7 月 26 日の 3 回ツ反応を実施した。

3) 病 理 学 的 検 査

A 農家 3 頭、B 農家 1 頭の計 4 頭について肉眼病変の

*¹⁾ 埼玉県大宮家畜保健衛生所(埼玉県大宮市別所町 107-1)

*²⁾ 農林水産省家畜衛生試験場(茨城県筑波郡谷田部町観音台 3-1-1)

有無を観察した後、体内諸臓器および各リンパ節を採材し、10%ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋し、薄切後ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、また一部のものについてはPAS染色を実施して鏡検に供した。

4) 細菌学的検査

4頭の心臓、肺臓、肝臓、腎臓、脾臓と顎凹、肩前、肺、肝、乳房の各リンパ節を細挫し、滅菌した1%苛性ソーダ液4~5倍量加えて混和し、室温に30分間静置後、その0.1mlを1%小川培地に接種した。培養は37℃で2カ月間行い、分離菌の同定は工藤の方法²⁾に従った。また同時に、国立療養所中部病院の東村道雄博士より分与をうけた *M. kansasii* 3株を対照菌株として用いた。

5) モルモットの皮内反応

分離抗酸菌と人型菌青山B株とについて、滅菌流動パラフィンを用いて1mg/1mlの菌浮遊液をつくり、その0.25mlを体重約400gのモルモット6匹に筋肉内注射した。約11週後哺乳型ツを1,000倍、2,000倍、4,000倍に希釈し、試作鳥型ツを50倍、100倍、200倍に希釈してそれぞれ0.1mlを皮内接種し、24時間後反応を測定した。

2. 成績

1) ツベルクリン検査成績

淘汰牛のツ反応は表1に示したように、No.1, 2, 3では2回、No.4では3回反復実施した。腫脹差をみるとNo.1は初回が7.3mm、第2回検査では3.0mmであった。No.2では11.2mm、6.0mm、No.3では9.5mmから4.0mmと、いずれも第2回目の検査で腫脹差は減少したが陰性とはならなかった。また、No.4では第1回腫脹差5.0mm、2回目および3回目の検査では、それぞれ4.5mm、5.0mmを示したので、結核牛として淘汰された。

2) 剖検所見

剖検所見は表2に示すとおり、No.1は肝臓の灰白小結節と乳房リンパ節の腫大と充出血、No.2は肝臓と脾

表1 ツベルクリン反応成績

農家	牛No.	腫 脹 差 (mm)				
		検 査	年	月	日	
		54.11.30	54.12.7	55.1.31	55.3.31	55.7.26
A	1	ND	7.3	3.0	ND	ND
	2	ND	11.2	6.0	ND	ND
	3	ND	9.5	4.0	ND	ND
B	4	5.0	ND	ND	4.5	5.0

注) ND:実施せず

表2 剖 検 所 見

所 見	心	肺	肝		腎		脾	乳 房
			腫 大	結 節	退 色	灰 白 結 節		
牛No.	暗 赤 色 病 巣	灰 白 小 結 節	腫 大	結 節	退 色	灰 白 結 節	出 血 点	硬 結
1	-	-	+	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	-	-	-	+
3	-	-	-	-	-	-	-	+
4	-	+	-	-	+	+	+	-

臓の腫大と乳房の硬結、No.3は乳房の硬結、No.4は肺臓に暗赤色病巣、腎臓の退色と灰白結節および出血点がみられた。

3) 病理組織学的所見

病理組織所見は表3に示すとおり、結核結節は4頭とも認められなかった。No.1は心臓の間質に円形細胞浸潤、肝臓の間質に好中球の浸潤で肉眼的に灰白小結節が認められた部位は、病理組織学的には何ら変化はみられなかった。腎臓のボーマン氏嚢壁の肥厚、尿細管上皮の変性および間質の円形細胞浸潤、脾臓の濾胞周囲に好中球の浸潤、慢性乳房炎像がみられた。No.2は腎臓がNo.1と同所見であり、脾臓の赤脾髄に真菌が認められ慢性乳房炎像もみられた。No.3はカタル性肺炎、腎臓の間質に円形細胞浸潤と尿細管上皮の変性、脾臓のRES活性化および慢性乳房炎像がみられた。No.4はカタル

表3 病 理 組 織 所 見

所 見	心		肺		肝		腎		脾		乳 房		リ ン パ 節					
	円形細胞浸潤	心筋変性	原虫	肺炎	原虫	細胞浸潤	ボーマン氏肥厚	尿細管変性	細胞浸潤	好中球浸潤	RES活性化	真菌	乳房炎	炭粉沈着	プラズマ細胞	ヘモジデリン	洞カタル	RES活性化
牛No.																		
1	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
2	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
3	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
4	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-

性肺炎，腎臓は No. 1 と同所見で結節は病理組織学的に所見は認められず，カタル性乳房炎および心臓，肺臓，肝臓，乳房には原虫が確認された。

4) 細菌検査成績

細菌検査成績は表 4 に示すとおり，No. 1 の肺門リンパ節から非定型抗酸菌が分離された。本菌の性状は表 5 に示すとおり，遅発育菌で光発色性，亜テルル酸塩還元は陰性，マッコニー寒天に発育せず，カタラーゼ半定量では強陽性，68℃ 20 分カタラーゼは陽性，硝酸塩還元，ツイーン水解およびウレアーゼは陽性，ナイアシンは陰性であった。発育温度は，25℃ と 37℃ で発育したが，45℃ では発育しなかった。以上の性状は，東村道雄博士より分与された *M. kansasii* に一致することから，分離株を *M. kansasii* と同定した。

表 4 細菌検査成績

牛 No.	リンパ節										
	心	肺	肝	腎	脾	頸凹	肩前	肺門	肝門	脾門	乳房
1	-	-	-	-	-	-	-	+	*	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注) *: *M. kansasii*

5) モルモット皮内反応

M. kansasii 感作モルモットの皮内反応では，哺乳型ツに対する反応が鳥型ツに対する反応より強くあらわれた。また，*M. kansasii* および *M. tuberculosis* 感作モルモットに対する哺乳型ツの反応では，両感作群間に同程度の反応を示して皮内反応による菌種特異性はみとめられなかった。いっぽう，鳥型ツに対する反応は，全般的に哺乳型ツにくらべて弱い傾向であったが，哺乳型ツと同様に両感作モルモットに対して同程度に反応した。

3. 考 察

昭和 55 年，埼玉県下において 4 頭のツ反応陽性淘汰牛について病理学的・細菌学的検査を実施した。その結果，全頭に結核結節は認められず，いわゆる無病巣反応牛であったが，1 頭の肺門リンパ節から遅発育菌で光発色性の抗酸菌が分離され，生化学的諸性状から *M. kansasii* と同定された。本菌は Runyon のグループ I に属する抗酸菌で，元來人の非定型抗酸菌症の主要原因菌として注目され，わが国においては *M. intracellulare* について多く分離され⁹⁾，とくに東京・神奈川に多く¹²⁾，公衆衛生上問題となる菌である。本菌の牛からの分離例は少なく，わが国では初めての例であるが，欧米諸国においても，WORTHINGTON¹³⁾ら，THOEN¹¹⁾ら，MELLADO⁹⁾らの 3~4 編の報告をみるにすぎない。牛の場合，*M. kansasii*

表 5 分離菌の生化学的性状

菌株名	検査項目	抗酸性	発育速度	光発色性	亜テルル酸塩還元	マッコニー寒天	カタラーゼ半定量	68℃ 20分カタラーゼ	硝酸塩還元	ツイーン水解	ウレアーゼ	ナイアシン	発育温度		
													25℃	31℃	45℃
S-55322		+	S	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>M. kansasii</i>															
07042		+	S	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
07047		+	S	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
07048		+	S	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-

注) S: Slow grow

表 6 哺乳型および鳥型ツベルクリンによる皮内反応成績

感 作 菌	モルモット No.	哺乳型ツ			鳥型ツ		
		×1,000	×2,000	×4,000	×50	×100	×200
<i>M. kansasii</i>	1	19×20	16×18	15×15	16×15	11×12	10×9
	2	20×20	18×17	16×16	18×16	16×16	13×13
	3	22×22	20×19	18×16	21×19	17×16	15×15
<i>M. tuberculosis</i>	4	23×23	20×21	18×18	17×17	14×14	12×12
	5	21×21	20×20	15×16	11×11	8×8	6×6
	6	20×10	17×19	15×15	14×15	12×13	8×8

感染例では肉眼的に肺および縦隔リンパ節に結核結節をつくると WORTHINGTON¹³⁾ は報告しているが、われわれの例においてはこれらの所見はみられなかった。人の *M. kansasii* 症では肺臓、肝臓、脾臓、肺門リンパ節に病変が多く出現し、類上皮細胞性の肉芽腫をつくると述べられている。

皮内反応については、ROSSI⁸⁾ の *M. kansasii* 人工感染牛に対する皮内反応で哺乳型ツに対して 4.3 mm の平均腫脹差を示しており、われわれの例においても No. 1 で、初回の 7.3 mm について第 2 回では 3.0 mm の腫脹差が測定された。また、さらに分離 *M. kansasii* 感作モルモットに対するツ反応をみると、哺乳型ツに対して *M. kansasii* 感作モルモットの反応は対照の結核菌感作モルモットの反応と同程度で、結核菌との間に交差反応が成立した。これらの成績から、今回の無病巣反応牛 No. 1 はその原因として *M. kansasii* の感染によることが考えられた。

つぎに、菌分離陰性であった No. 2 と No. 3 および No. 4 の 3 頭については、病理組織学的に真菌、寄生虫感染、腎炎、慢性乳房炎などが認められたが、現在、ツ反応陽性の原因について論じ得る十分な資料はない。無病巣反応牛の病原学的検索について MOREHOUSE⁴⁾ はツ反応陽性淘汰牛 788 例中 5 例に真菌を、17 例に寄生虫感染を認め、ROGERS⁹⁾ らは *Phodococcus* 属菌を、SHIMIZU¹²⁾ は *M. gordonae* 様菌を、PEARSON⁷⁾ は *M. flavescens*, *M. terrae* complex をそれぞれ分離している。また、CORNER⁶⁾ は牛の感染実験から、哺乳型ツとこれら非定型抗酸菌との間に交差反応が成立することを報告している。かれらの成績は、真菌や寄生虫感染およびあ

る種の抗酸菌が無病巣反応牛の原因となり得ることを示唆するものであり、その因果関係については今後に残された課題である。

文 献

- 1) CORNER, L. A. and PEARSON, C. W.: *Aust. Vet. J.*, 55, 6~9 (1979).
- 2) 工藤祐是: 結核菌検査, 財団法人結核予防会, 東京 (1977).
- 3) MELLADO POLLO, A.: *Vet. Bull.*, 49, 670~671 (1979) [*Rev. Sanid. Hyg. Publ. (Spain)* 51, 1009~1049 (1977)].
- 4) MOREHOUSE, L. G., SINGER, R. H. and McDANIEL, H. A., et al.: *Proc. U.S. Livestock San. Assoc.*, 67th, 403~437 (1963).
- 5) 根本 久, 畠山英夫, 松井光蘭, ほか: 日獣会誌, 22, 114~117 (1969).
- 6) PEARSON, C. W., CORNER, L. A. and LEPPER, A. W. D.: *Aust. Vet. J.*, 53, 67~71 (1977).
- 7) ROGERS, R. J., DONALD, B. A. and SCHULTZ, K.: *Aust. Vet. J.*, 56, 542~546 (1980).
- 8) ROSSI, L.: *Acta Vet. Brno*, 44, 377~384 (1975).
- 9) 斉藤 肇: 臨床と細菌, 5, 363~367 (1978).
- 10) SHIMIZU, K., MASAKI, S. and HIROSE, T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 43, 13~19 (1981).
- 11) THOSEN, C. O., HIMES, E. M. and RICHARDS, W. D., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 40, 118~120 (1979).
- 12) 東村道雄, 下出久雄, 喜多舒彦, ほか: 結核, 51, 447~451 (1976).
- 13) WORTHINGTON, R. W. and KLEEBOEG, H. H.: *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.*, 35, 29~33 (1964).