

肉用子牛肺炎例からのMoraxella catarrhalisの分離

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
巻/号	485
掲載ページ	p. 319-322
発行年月	1995年5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



肉用子牛肺炎例からの *Moraxella catarrhalis* の分離

長井 誠¹⁾ 小澤 正²⁾ 石川直樹¹⁾ 小前博文³⁾
早川裕二²⁾ 中澤宗生⁴⁾

- 1) 石川県北部家畜保健衛生所 (〒929-21 石川県鹿島郡田鶴浜町大津 1-47)
- 2) 石川県南部家畜保健衛生所 (〒920-01 金沢市才田町戊 324-2)
- 3) 石川県畜産試験場 (〒929-13 石川県羽咋郡押水町坪山ナ 93-2)
- 4) 農林水産省家畜衛生試験場九州支場 (〒891-01 鹿児島市中山町 2702)

(平成6年6月9日受付・平成7年2月3日受理)

要 約

1992年1月と5月に、化膿性気管支肺炎で死亡した黒毛和種2頭の肺病変部から、*Moraxella catarrhalis* が分離され、病変部に免疫組織学的に *M. catarrhalis* 抗原が確認された。

—キーワード：子牛, *Moraxella catarrhalis*, 肺炎。

日獣会誌 48, 319~322 (1995)

Moraxella catarrhalis はグラム陰性の双球菌で、人では従来口腔内常在細菌叢^{5,7,13)}あるいは非病原性の上気道常在細菌^{5,7,9)}とみなされてきた。ところが、近年本菌が人の呼吸器感染症、特に慢性呼吸器感染症の起原菌であることを示唆する報告が増加しており⁷⁾、気道感染菌として注目されている^{5,6,7,9,12,13)}。いっぽう、家畜では、分離報告例がきわめて少ないため、本菌感染症の実態はまったく不明である。今回、著者らは黒毛和種(繁殖牛70頭)を飼養する農場で、病性鑑定を実施した子牛2頭の肺炎病変部から、*M. catarrhalis* を分離した。そこで、これらの症例について細菌学的、病理学的に検討した。

材料および方法

被検牛：1991年12月3日ごろから9カ月齢の黒毛和種が膿様鼻汁排泄、発咳を呈し、抗生剤投与等の治療にもかかわらず慢性の臨床所見を呈した、その後回復のきざしがみられたが、1992年1月20日に病態が悪化し、呼吸促進、激しい発咳を示し翌日に死亡した(症例1)。1992年5月2日、3カ月齢の黒毛和種が自失呆然と立ちすくんでいるのが発見された。輸液、強心剤が投与されたが翌日死亡した(症例2)。

病原学的検査：剖検後、各臓器を5%めん羊血液加寒天培地^{a)}およびDHL寒天培地^{b)}に接種し、37°C 24時間、好気培養、微好気培養および嫌気培養を実施した。分離菌は成書²⁾に記載された方法および市販の同定用キット^{c)}により同定した。また、*M. catarrhalis* の同定は基準株であるATCC25238を参考株として行った。ウイルス学的検査として、各臓器の乳剤を作製し、牛胎子腎細

胞培養および牛胎子精巢細胞培養に接種し、37°Cで7日間回転培養を行った。

病理学的検査：各臓器を10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を行い鏡検した。また、肺における菌体抗原の検出のため、症例1から分離した *M. catarrhalis* のホルマリン不活化抗原に対するウサギ抗血清を作製し、市販の免疫組織化学反応用キット^{d)}を用いて免疫染色(ABC法)を実施した。

抗体検査：*M. catarrhalis* および *Haemophilus somnus* は凝集反応¹⁰⁾、*Pasteurella multocida* は間接赤血球凝集反応⁴⁾、*Actinomyces pyogenes* は寒天ゲル内拡散法¹¹⁾により、死亡牛2頭(症例1およびその同居牛4頭)においては経時的に採血)および同居牛68頭、さらに管内の30戸520頭の牛血清の抗体を測定した。また、ウシRSウイルス、ウシライノウイルス、ウシ伝染性鼻気管炎ウイルスおよびレオウイルスは中和反応により抗体を調べた。

M. catarrhalis の保菌調査：発生農場および管内2酪農家の52頭について、鼻腔および眼のぬぐい液を5%めん羊血液加寒天培地に塗布し、*M. catarrhalis* の分離を試みた。

感染実験：*M. catarrhalis* の病原性を調べるため、6頭のモルモットの気管内に本菌(10⁹CFU/ml, 0.5ml)を接種後3日に剖検し病理学的検査を実施した。

a) 日本製薬, 東京。

b) 栄研化学, 東京。

c) IDテスト・HN-20ラピッド, 日本製薬, 東京。

d) Vector laboratories, U.S.A.

表1 死亡牛の肺病変部からの細菌分離と菌数

症例 No.	分離細菌	分離菌数
症例 1	<i>M. catarrhalis</i>	2.0×10^6 CFU/g
	<i>P. multocida</i>	7.0×10^6 CFU/g
	<i>H. somnus</i>	2.0×10^8 CFU/g
	<i>A. pyogenes</i>	2.8×10^8 CFU/g
症例 2	<i>M. catarrhalis</i>	2.0×10^5 CFU/g
	<i>P. haemolytica</i>	1.8×10^6 CFU/g
	<i>P. multocida</i>	1.6×10^6 CFU/g

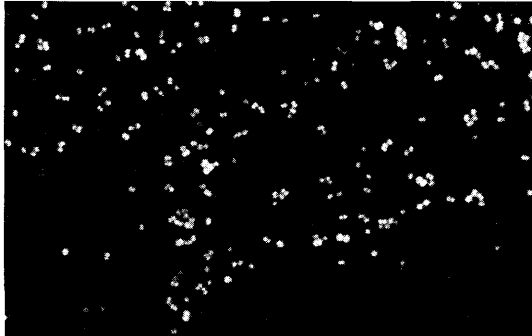


図1 死亡牛から分離された *M. catarrhalis* の形状 (グラム染色 $\times 1,000$)

成 績

病原学的所見：症例1および2の肺病変部から *M. catarrhalis* がそれぞれ 2.0×10^6 , 2.0×10^5 CFU/g 分離された。また、*P. multocida*, *P. haemolytica*, *H. somnus*, *A. pyogenes* など他の菌種 ($10^5 \sim 10^8$ CFU/g) も同時に分離された(表1)。分離 *M. catarrhalis* のコロニー形態は白色円形、グラム陰性の双球菌(図1)、非溶血性、カタラーゼ、オキシダーゼ陽性および炭水化物分解能陰性等、基準株である ATCC25238 とほぼ同様な性状を示した(表2)。ウイルス学的検査では、症例1および2のすべての臓器から細胞病原性を示すウイルスは分離されなかった。

病理学的所見：両症例とも剖検時、気管内に泡沫および乳白色の粕状物、肺断面に黄緑色膿様物がみられ、組織所見では症例1に慢性化膿性気管支炎像、症例2に化膿性気管支肺炎像が認められた。

免疫染色では、症例1の気管支内退廃物中に、症例2ではそのほか気管支粘膜上皮および肺胞内に菌体抗原が検出された(表3)。

M. catarrhalis の分離：菌分離を試みた52頭のうち、発生農場の育成牛1頭の鼻腔ぬぐい液から本菌が分離された。

抗体検査：症例1では8月から10月に *P. multocida* の抗体価の上昇がみられ、11月から剖検時に *M. catarrhalis*

表2 死亡牛の肺から分離された *M. catarrhalis* の生物学的・生化学的性状

生物学的・生化学的性状	分離菌	ATCC25238
コロニーの形態	白色円形	白色円形
グラム染色	陰性, 双球菌	陰性, 双球菌
溶血性 (羊赤血球)	— ^{a)}	—
カタラーゼ	+	+
オキシダーゼ	+	+
OF	—/—	—/—
アラニン アミノペプチダーゼ	+	+
ホスファターゼ	—	—
硝酸塩還元	+	+
ウレアーゼ	—	—
オルニチン デカルボキシラーゼ	—	—
インドール産生	—	—
グルコシダーゼ	—	—
プロリン アミノペプチダーゼ	—	—
γ-グルタミル アミノペプチダーゼ	—	—
炭水化物分解能		
グルコース	—	—
マルトース	—	—
フルクトース	—	—
マンノース	—	—
マンニット	—	—
トレハロース	—	—
サッカロース	—	—
ラクトース	—	—
キシロース	—	—
β-ガラクトシダーゼ	—	—
亜硝酸塩還元	—	+
β-ラクタマーゼ	—	—

^{a)} +=陽性；-=陰性

表3 肺病変部における *M. catarrhalis* 抗原分布

検査材料	症例1	症例2
気管支粘膜上皮	— ^{a)}	±~+
気管支内退廃物中	+~++	+~++
肺胞内	—	±~+

^{a)} —=陰性；±=極めて軽度；+=軽度；++=中程度

rhalis, *H. somnus* および *A. pyogenes* の抗体価の有意上昇が認められた。特に、*M. catarrhalis* の抗体価は死亡前の1月21日には320倍まで上昇した(図2)。症例1およびその同居牛の *M. catarrhalis* の抗体価の推移では、他の同居牛2頭も同様に抗体価は160倍まで上昇した。中和反応では、各ウイルスともその抗体価に変動は認められなかった。また、当該農場において、*M. catarrhalis* に対する抗体保有状況を凝集反応によって調査したところ、育成牛では抗体価が10倍以上のものは育成牛9頭中7頭(77.8%)で、平均抗体価は14.6倍であり、成牛のそれは59頭中59頭(100%)で、平均抗体価は58.3倍であった。

さらに、管内9市町村30戸の酪農家について *M. catarrhalis*

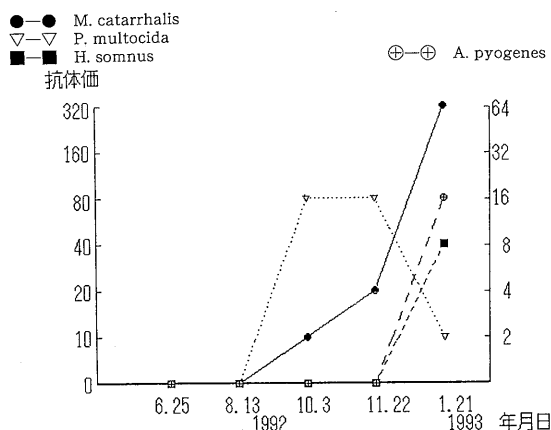


図2 症例1における各種細菌に対する抗体価の推移

arrhalis に対する抗体保有状況を同じく凝集反応によって調査したところ、育成牛 152 頭のうち、抗体価が 10 倍以上のものは 65 頭 (42.8%) で、平均凝集抗体価は 7.1 倍、成牛のそれは 368 頭中 319 頭 (86.7%) で、平均抗体価は 23.1 倍であった。

分離菌接種モルモット：気管内接種では、気管上皮の変性が接種 6 頭中 4 頭に、化膿性肺炎および肺胞の出血がそれぞれ 2 頭に認められた。死亡例や呼吸器症状の発現は認められなかったが、免疫染色により肺炎病変部のマクロファージ内および腫大した肺胞上皮細胞内に *M. catarrhalis* の菌体抗原がわずかに認められた。

考 察

今回、2 例の黒毛和種子牛の肺炎病変部から *M. catarrhalis* を分離した。本菌は人の呼吸器感染症の一原因菌として最近注目されている^{5, 6, 7, 9, 12, 13)}が、家畜では本菌感染症の実態はまったく不明であり、わずかにニュージーランドでめん羊の肺炎病変部⁸⁾から、チェコスロバキアとイギリスで正常牛の眼^{1, 3)}からの分離例が報告されているにすぎない。したがって、本症例はきわめてまれであるとともに、牛肺炎病変部からの本菌分離はわが国では最初のものと思われる。

本菌の牛に対する肺炎起病性についてはまったく検討されておらず明らかではないが、人ではいわゆる易感染性宿主 (compromised host) に多くの症例がみられることから^{5, 6)}、日和見感染菌と考えられている。家畜では、Pfeffer⁸⁾ がめん羊の肺炎病変部から本菌を分離しているが、実験的に気管支を綿栓でふさぐことによって起こした肺炎病変部からの分離であり、正常な状態での感染ではない。今回のモルモットを用いた気管内接種で、呼吸器症状の再現や死亡例などが認められなかったことから本菌そのものは弱毒菌であると思われる。松本ら⁹⁾、

早瀬ら⁵⁾および澤木ら⁹⁾は、本菌の関与する人の肺炎では他の細菌との混合感染が頻繁にみられ、同時検出菌としては *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* 等すでに病原性の認められている細菌が多いと報告している。本症例も同様で、*M. catarrhalis* の単独感染ではなく、*P. multocida*, *P. haemolytica* 等肺炎起病菌とされている複数菌の感染による肺炎であった。これらのことより、本菌の肺への感染は何らかの原因で肺に対する抵抗性が低下した場合か、物理的な障害が存在するときに成立するものと思われる。また、他の病原性細菌やウイルスなどの関与も必要と考えられる。

いっぽう、人において本菌は口腔内常在菌とみなされている^{7, 12)}。家畜においても Dusabek ら³⁾, Barber¹⁾ は正常牛の眼から本菌が頻繁に分離されることを報告しており、今回健康牛の鼻腔ぬぐい液からも本菌が分離された。また、本菌に対する抗体検査において、成牛のほとんどに分離株に対する抗体が検出された。このような成績から本菌は広く牛に分布しているものと推察される。

今回の報告から明らかになったように、本菌の関与が推定される肺炎が牛に存在し、しかも本菌は広く牛に分布していることから、今後病性鑑定を行ううえで本菌に対しても注意を払う必要があると思われる。

稿を終えるに当たり、免疫染色を実施していただいた農林水産省家畜衛生試験場播谷 亮主任研究官ならびに小林 勝技官に深謝いたします。

引用文献

- 1) Barber DML: Vet Rec, 115, 169 (1984)
- 2) COWAN ST, Steel KJ: 医学細菌同定の手びき, 第 2 版, 坂崎利一訳, 89-94, 近代出版, 東京 (1975)
- 3) Dusabek F, Soukupova A, Gregor F et al: Folia Parasitol, 29, 79-83 (1982)
- 4) 福安嗣昭, 天田順久, 斉藤慶子ほか: 日獣会誌, 45, 752-756 (1992)
- 5) 早瀬 満, 大谷信夫: 化学療法の領域, 1, 988-993 (1985)
- 6) 松本慶蔵, 永武 毅, 宇塚良夫ほか: 日内会誌, 71, 1696-1702 (1982)
- 7) 那須 勝, 明石光伸, 西本勝太郎ほか: 微生物学・臨床微生物学, 上田智ほか編, 第 2 版, 126-127, 医学書院, 東京 (1987)
- 8) Pfeffer A: J Comp Pathol, 98, 167-176 (1988)
- 9) 澤木政好, 三上理一郎: 化学療法の領域, 1, 176-182 (1985)
- 10) 田川裕一: 家畜診療, 296, 23-31 (1988)
- 11) 竹内正太郎: 豚病学, 熊谷哲夫ほか編, 第 3 版, 362-365, 近代出版, 東京 (1987)
- 12) 谷本普一: 検査と技術, 17, 613-618 (1989)
- 12) 上遠野保裕, 内田 博: 検査と技術, 18, 1406-1407 (1990)

Isolation of *Moraxella catarrhalis* from Calves with Pneumonia

Makoto NAGAI*, Tadashi OZAWA, Naoki ISHIKAWA, Hirofumi KOMAE,
Yuuji HAYAKAWA and Muneo NAKAZUWA

* Hokubu Livestock Hygiene Service Center, Ishikawa Prefecture, 1-47 Tazuruhamamachi,
Kashima, Ishikawa 929-21, Japan

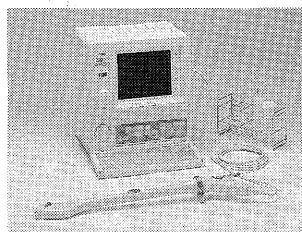
SUMMARY

In January and May 1992, *Moraxella catarrhalis* was isolated from the lungs of two fatal cases of calves of Japanese Black breed showing purulent bronchopneumonia. Immunohistology revealed *M. catarrhalis* antigen was demonstrated in the pneumonic lesions. —Key words : calf, *Moraxella catarrhalis*, pneumonia.

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 48, 319~322 (1995)

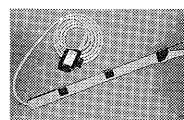
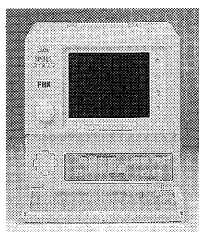
超音波卵胞卵子採取システム

C-1型 コンベックスタイプ



- スーパーアイ SSD-500
- コンベックス探触子 UST-994P-5
- 採卵針
- 吸引器 FV4
- 恒温槽 FV5

L-1型 リニアタイプ



- スーパーアイSSD-500
- リニア探触子
- 吸引器 FV4
- 恒温槽 FV5

FHK 富士平工業株式会社 東京都文京区本郷6丁目11番6号 〒113
電話 東京(03)3812-2271 ファクシミリ(03)3812-3663