

南九州地方における牛のアクチノバチラス病の病原学的研究

輿水 馨・脇元 弘史・安田 宣紘*¹・岡村 洋徳*²・中沢 宗生*³

(家畜微生物学研究室)

平成6年8月10日受理

Etiological Studies on Bovine Actinobacillosis Prevailing in South Kyushu Districts

Kaoru KOSHIMIZU, Hiroshi WAKIMOTO, Nobuhiro YASUDA*¹, Hironori OKAMURA*²

and Muneo NAKAZAWA*³

(Laboratory of Veterinary Microbiology,)

緒 言

牛のアクチノバチラス病は *Actinobacillus lignieresii* の感染によって起こされる慢性疾患で、牛の頭頸部および口腔等の軟部組織に化膿性の肉芽腫を形成するのを特徴とする。とくに木舌といわれる舌の感染では、舌が硬化し可動性を欠き次第に採食や嚥下が困難となり、予後は不良となるため畜産上重要な疾病の一つである。

本病は1902年に Lignieres and Spitz⁵⁾により報告されたのが最初であるが、その後世界各国で発生が認められるようになった。わが国では1962年から1965年にかけての鳥取県における集団発生例、またそれに引き続く北海道および宮崎での発生例における細菌学的・血清学的検索が Nakazawa⁶⁾らによって報告された。また、景森ら⁴⁾および松本¹³⁾による東京都芝浦と場での調査により、本病が日本各地の広い範囲で発生していることが報告されている。

1992年12月13日、鹿児島大学農学部獣医学科に病性鑑定のため搬入された牛の頭頸部膿瘍からグラム陰性の多形性桿菌が純粹に分離されたのでアクチノバチラス病が疑われた。しかし南九州地方における本

病については、これまで詳細な報告はなく、その実体は不明である。そこで以後一年半に亘り鹿児島県末吉と畜場でと殺され、同食肉衛生検査所で検査に供せられた牛を中心に、本病の発生状況、病原菌の検出および同定、分離菌の血清型別ならびに本病の血清疫学的調査を行った。

材 料 と 方 法

1. 検査に供した牛

平成3年12月から同5年6月までの間、鹿児島県末吉食肉衛生検査所で外見的にアクチノバチラス病が疑われた黒毛和種21頭、ホルスタイン種1頭、鹿児島大学農学部獣医学科および農林水産省家畜衛生試験場九州支場に病勢鑑定のためそれぞれ搬入された黒毛和種各1頭、合計24頭の成牛であった (Fig. 1)。これらの病牛は解体後の検査で、鼻鏡、鼻腔内、頭頸部、咽頭周囲の皮下組織および咽頭後部のリンパ節、舌、肺、上下顎骨などに膿瘍が認められた (Fig. 2)。



Fig. 1. Severe facial enlargement in an affected cow

*¹ 家畜病理学研究室

Laboratory of Veterinary Pathology

*² 鹿児島県末吉食肉衛生検査所、鹿児島県末吉町諏訪方 8653-7

Kagoshima Prefectural Sueyoshi-Meat Inspection Office, 8653-7 Sueyoshi, Kagoshima 899-86

*³ 農林水産省家畜衛生試験場九州支場、鹿児島市中山町 2702

Kyushu Branch, National Institute of Animal Health, 2702 Chyuzan, Kagoshima 891-01

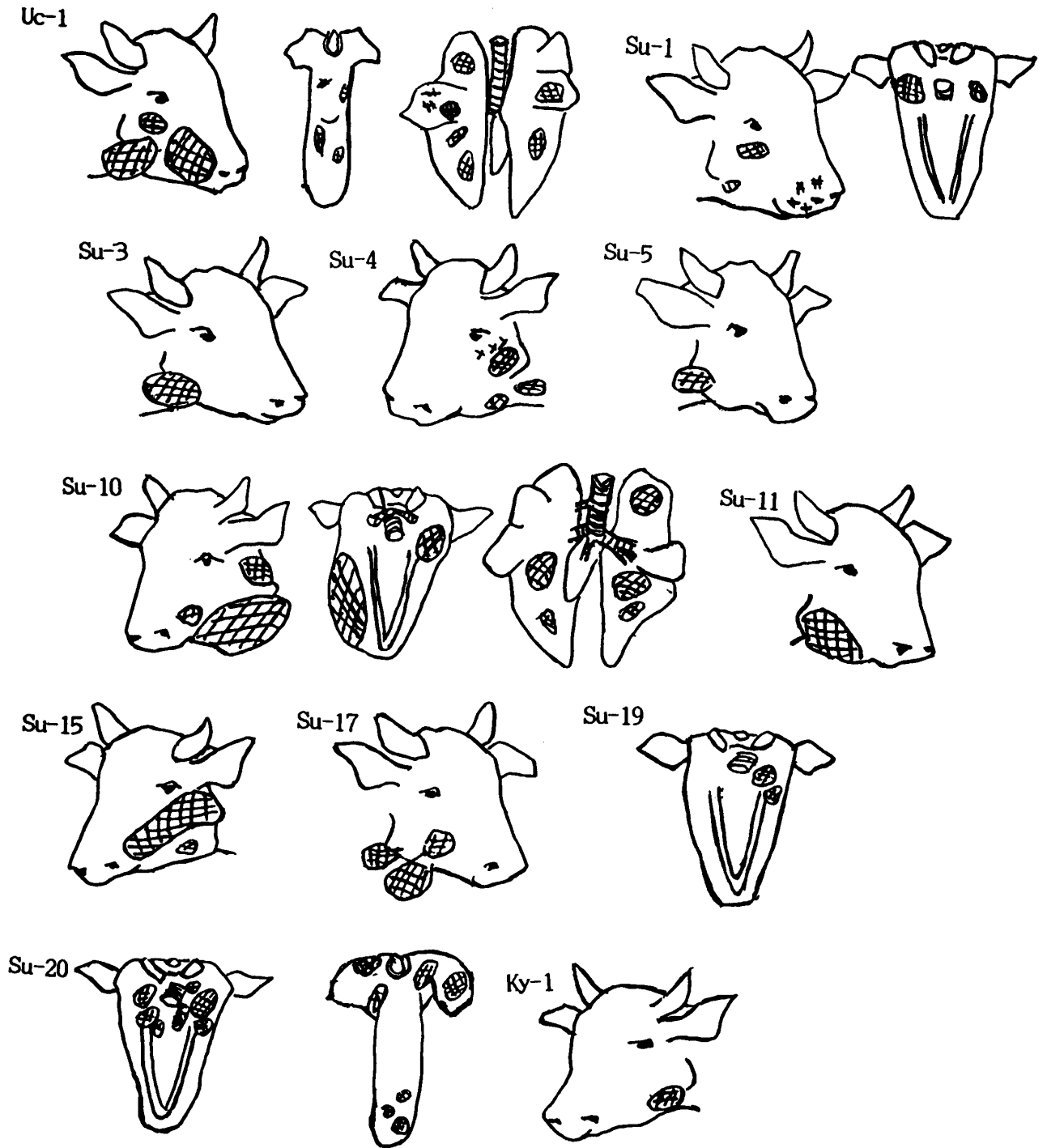


Fig. 2. Location of abscesses in the various parts of head, tongue and lung of cattle affected with *A. lignieresii*

2. 菌の検出方法

牛の膿瘍の一部をグラム染色するとともに滅菌綿棒により無菌的に採取し、5%馬血液寒天培地に直接塗布して37℃で24~48時間好気的および嫌氣的（ガスバック法）培養ならびに炭酸ガス培養（CO₂ 5% + N₂95%）を行った。また膿瘍の一部をスライドガラス上にとり、10%苛性ソーダ液で処理後カバーガラスで圧平し、顕微鏡によりロゼットの有無を検査した。

3. 分離菌の生物学的性状検査

血液寒天上に発育した乳白色小型の集落についてグラム染色した後純培養を行い、各種生化学的性状を調べて同定した。対照として基準株 *A. lignieresii* NCTC 4189を用いた。

生化学的性状の検査は、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、尿素分解試験、SIM 培地でのインドールと硫化水素の産生性、運動性およびガス産生の有無、硝酸塩還元試験、クエン酸塩利用能、O-F 試験、MR-VP 試験、PPA 試験、リジン脱炭酸試験、ONPG 試験、マッコンキー寒天培地（栄研）における発育の有無および各種糖分解能試験につき成書¹⁵⁾の記載に準じて行った。

4. 分離株の血清学的性状検査

1) 抗原の作製

家兔免疫血清の作製に使用した菌株は、Phillips¹²⁾由来の参照株 *A. lignieresii* A 2 (I型) NCTC 10563, A 3 (II型) NCTC 10565, A 6 (III型) NCTC 10566, A 7 (IV型) NCTC 10567, A 13 (V型) NCTC 10568, A 180 (VI型) NCTC 10569, および基準株 NCTC 4189ならびに著者らの分離株 Uc-1, Su-1, Su-4, Su-11の合計11株である。これらの菌株を Dextrose starch agar; DSA (Difco) で、37℃, 24時間培養した菌をかきとり約10mlの生理食塩液に浮遊後、5,000 rpm 15分間遠心沈澱した。その沈澱を生理食塩液に再浮遊させ100℃ 2時間煮沸後、5,000 rpm 15分間の遠心沈澱と再浮遊を2回繰り返す。最後の沈澱を McFarland No 6 の濃度に調整した。

2) 免疫血清の作製

家兔（日本白色種♀, 約3kg）を用い、その耳静脈内に抗原を1日目に0.5ml, 2日, 9日, 13日, 17日, 21日, 25日目にそれぞれ1mlを注射し、32日目に試血して十分な抗体価が認められた場合、35日目に心臓より採血し血清を分離した。一部の家兔については、1日目に抗原0.5mlと Freund の完全ア

ジュバント0.5mlとの混合乳剤を筋肉内および皮下に0.5mlずつ注射し、以後5日目と9日目に抗原・アジュバント混合乳剤を1mlずつ筋肉と皮下に注射した。その後23日目と27日目に抗原液のみを1mlずつ耳静脈内注射し、37日目に採血した。

3) 試験管内凝集反応の術式

抗血清を生理食塩液で10倍から2倍段階希釈した後、各試験管に等量の抗原 (McFarland No 3) を入れ混合した。反応は56℃で6時間感作した後、37℃18時間行った。対照として生理食塩液と抗原とを同様処置し、自発凝集の起こらないことを確認した。判定は凝集像を+, ++, +++の3段階に分けて観察し、凝集 (+) の認められた試験管の最高希釈倍数を以て抗体価とした。

4) ゲル内沈降反応の術式

抗原多糖体の抽出は、試験管内凝集反応に用いたのと同じ菌株から Nakazawa ら⁸⁾および Baker and Wilson¹⁾の方法に準じ、フェノール-水抽出法により行った。このようにして作製した抗原のグルコース含量はフェノール-硫酸法²⁾により定量した。抗血清は前述の試験管内凝集反応を用いたものを使用した。寒天ゲルは100mlの蒸留水に食塩を0.8g, Agar noble (Difco) を1g溶解し、防腐剤としてマーゾニンを0.01%になるように添加し作製した。直径4mmのウェルを6mm間隔で六角形の中心と周囲に計7個配置し、中心のウェルには抗血清を、周囲のウェルには抗原をそれぞれ一杯になる量（約30μl）注入した。室温で湿度を保ち24時間反応させた後、透過光線で沈降線を観察した。なお、標本の一部はアミノブラック10Bを0.5%の割合に加えた酢酸メタノール液（酢酸：メタノール=1.5：4）で染色した後保存した。

5. 血清疫学的調査

鹿児島市立と畜場でと殺され、外見的に健康な牛（黒毛和種）153頭および鹿児島県末吉と畜場でと殺された、本病罹患牛を含む牛群8頭合計161頭の牛から採取した血清について試験管内凝集反応により血清疫学的調査を行った。これらの牛の産地と頭数は鹿児島市周辺および南薩地方36頭、始良郡および北薩地方36頭、大隅地方83頭、その他6頭であった。凝集反応に用いた抗原は、分離株 *A. lignieresii* Ky-1 (V型) を DSA で37℃, 24時間培養した菌をかきとり生理食塩液に混合浮遊させ、5,000 rpm 15分間遠心沈澱した沈澱を生理食塩液で洗浄後、ホルマリンを0.5%になるように添加し、McFarland

No 3 の濃度に調整して用いた。凝集反応は、菌株の血清学的性状の検査と同じ術式で行った。

結 果

1. 病変からの菌分離

頭頸部等に膿瘍が認められ細菌検査を行った計24頭の牛のうち、アクチノバチラス病が疑われ、*A. lignieresii* が分離されたのは12頭 (50%) であった。これらの牛の膿瘍は頭頸部の軟組織、舌、肺、リンパ節などに肉芽組織によって囲まれており、白色無臭で硫黄顆粒を多数含み、ロゼットが認められた (Fig. 3)。本菌はほとんど単独で分離されたが、*Staphylococcus* sp. あるいは *Klebsiella* sp. が付随して分離された例もあった。残りの12頭の牛の膿瘍は悪臭を放つものや、薄緑色を帯びたものがあり、これらの膿瘍からは *Actinomyces pyogenes*, *Pasteurel-*

la sp., *Corynebacterium* sp. などの化膿菌が主に分離された。また上・下顎骨の膿瘍1例から *Actinomyces bovis* が分離された (Table 1)。

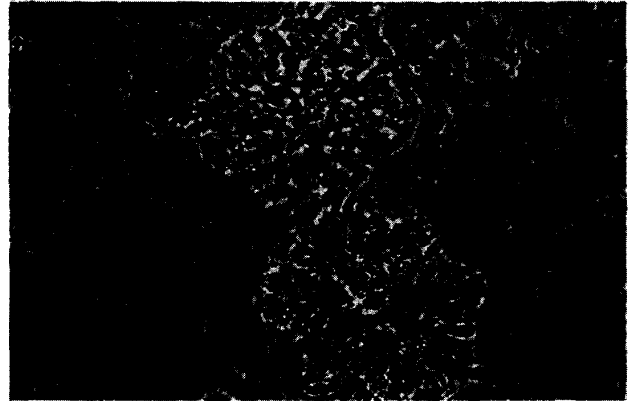


Fig. 3. Rosettes seen in a sample of pus from a typical abscess

Table 1. Detection of various bacteria from abscesses of cattle

Abscess No.	Bacteria isolated
○Uc-1	<i>Actinobacillus lignieresii</i>
○Su-1	<i>A. lignieresii</i>
Su-2	<i>Actinomyces pyogenes</i>
○Su-3	<i>A. lignieresii</i>
○Su-4	<i>A. lignieresii</i>
○Su-5	<i>A. lignieresii</i>
Su-6	<i>Klebsiella</i> sp., Enterobacteriaceae, Gram (-) rods
Su-7	<i>Staphylococcus</i> sp., Gram (-) rods
Su-8	Gram (+) rods, Enterobacteriaceae
Su-9	<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Proteus</i> sp., Enterobacteriaceae
○Su-10	<i>A. lignieresii</i>
○su-11	<i>A. lignieresii</i>
○Su-12	<i>Actinomyces bovis</i> , Enterobacteriaceae
Su-13	Gram (+) rods
Su-14	<i>Actinomyces pyogenes</i>
○Su-15	<i>A. lignieresii</i> , <i>Staphylococcus</i> sp.
Su-16	<i>Pasteurella</i> sp.
○Su-17	<i>A. lignieresii</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i>
Su-18	<i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Pasteurella</i> sp.
○Su-19	<i>A. lignieresii</i> , <i>Klebsiella</i> sp.
○Su-20	<i>A. lignieresii</i>
Su-21	<i>Staphylococcus</i> sp.
Su-22	<i>Corynebacterium</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp.
○Ky-1	<i>A. lignieresii</i>

○ : Rosettes were seen in these materials.

Table 2. Biochemical characteristics of isolated strains

Strain name	NCTC	Uc	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Su	Ky
Characteristics	4189	-1	-1	-3	-4	-5	-10	-11	-15	-17	-19	-20	-1	-1
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphology	R* ¹	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Rosette	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MacConkey agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O-F	F* ²	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
MR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PPA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*1 : Rod

*2 : Fermentation

2. 分離菌株の生化学的性状

A. lignieresii が疑われた分離株は、グラム陰性の多形性を示す小桿菌で、Table 2 に示すような各種生化学的性状および糖分解性を示した。イヌリンの分解性で2株が陽性を示したほか *A. lignieresii* 基準株 NCTC 4189 の性状と一致した。これらの性状から本菌を *A. lignieresii* と同定した。

3. 分離菌株の血清学的性状

1) 凝集反応による型別

凝集反応による型別では Table 3 に示すように、分離株のうち Su-4, Su-10, Su-20 は参照株の A 7

(IV型) との間に共通抗原性が認められるので A 7 と同じく Phillips の型別¹²⁾ による IV 型と判定された。また分離株の Uc-1, Su-3, Su-5, Su-15, Su-17, Su-19, Ky-1, Su-1, Su-11 の 9 株は参照株の A 13 (V型) の抗血清で凝集するので V 型と判定された。それらのうち Su-1 と Su-11 の 2 株は互いに交差を示し、参照株 A 13 (V型) および今回の試験で V 型と判定された Uc-1, Su-3, Su-5, Su-15, Su-17, Su-19, Ky-1 の 7 株とも程度の差こそあれ共通抗原性がある結果が得られた。

Table 3. Result of tube agglutination test

Antiserum / Antigen	A2 (Type I)	A3 (Type II)	A6 (Type III)	A7 (Type IV)	Su-4	A13 (Type V)	Uc-1	Su-1	Su-11	A180 (Type VI)	NCTC 4180
A2 (Type I)	640**	—*2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A3 (Type II)	—	1280	—	—	—	—	—	80	—	—	—
A6 (Type III)	—	—	2560	—	—	—	—	320	80	—	80
A7 (Type IV)	—	—	—	1280	1280	—	—	80	—	—	—
Su-4	—	—	—	640	5120	—	—	80	—	—	160
Su-10	—	—	—	640	320	—	—	160	160	—	—
Su-20	—	—	—	640	2560	80	—	—	—	—	80
A13 (Type V)	—	—	80	—	—	1280	2560	160	80	—	—
Uc-1	—	—	—	80	—	640	2560	160	80	—	—
Su-3	—	—	—	—	—	1280	2560	320	80	—	—
Su-5	—	—	—	—	—	640	2560	160	80	—	—
Su-15	—	—	—	—	—	1280	2560	160	—	—	—
Su-17	—	—	—	—	—	640	2560	80	—	—	—
Su-19	—	—	—	80	—	1280	2560	160	80	—	—
Ky-1	—	—	—	—	—	1280	2560	—	80	—	—
Su-1	—	—	—	—	80	320	640	1280	320	—	160
Su-11	—	—	—	80	80	160	320	1280	2560	—	80
A180 (Type VI)	—	—	—	—	—	—	—	80	—	640	80
NCTC4189*3	—	—	—	—	—	—	—	80	80	—	5120

*1: Agglutination titer

*2: $\leq 1:40$

*3: Type strain

2) ゲル内沈降反応による型別

ゲル内沈降反応に用いた参照株および分離株の抗原多糖体におけるグルコース含量は Table 4 に示すとおり、A 2 (I型) の $228 \mu\text{g}/\text{ml}$ から Su-10 の $1188 \mu\text{g}/\text{ml}$ に及んだ。沈降反応の結果は Table 5 に示すように Su-4, Su-10, Su-20 の 3 株は参照株 A 7 (IV型) および Su-4 株の抗血清との間に 1~2 本の沈降線を共有することから、これら 3 株は凝集反応と同じく IV 型と判定された。また、分離株の

Uc-1, Su-3, Su-5, Su-15, Su-17, Su-19, Ky-1 は参照株 A 13 (V型) の抗血清によって 2 本の沈降線を共有するので凝集反応の結果と同じく V 型と判定された。分離株の Su-1 と Su-11 は互いに共通する 1 本の沈降線を形成し、そのうち Su-1 の抗血清は他の V 型の 7 株と 1 本の沈降線を共有したが、Su-11 の抗血清は Su-1 および Su-11 以外に他の V 型の株とは反応しなかった。

Table 4. Glucose content of antigens used in agar gel precipitation test ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Reference strain	Antigen	A2	A3	A6	A7	A13	A180	NCTC	
		(Type I)	(Type II)	(Type III)	(Type IV)	(Type V)	(Type VI)	4189	
	Glucose	228	488	296	680	588	668	580	
Isolated strain	Antigen	Uc-1	Su-1	Su-3	Su-4	Su-5	Su-10	Su-11	Su-15
	Glucose	668	608	748	660	776	1188	822	684
	Antigen	Su-17	Su-19	Su-20	Ky-1				
	Glucose	596	572	548	504				

Table 5. Result of agar gel precipitation test

Antiserum	A2	A3	A6	A7	Su-4	A13	Uc-1	Su-1	Su-11	A180	NCTC
Antigen	(Type I)	(Type II)	(Type III)	(Type IV)		(Type V)				(Type VI)	4189
A2(Type I)	1*							1			
A3(Type II)		2									
A6(Type III)			1								
A7(Type IV)				2	1			1			
Su-4				1	2						
Su-10				2	1						
Su-20				1	2						
A13(Type V)						2	2	2			
Uc-1						2	2	1			
Su-3						2	2	1			
Su-5						2	2	1			
Su-15						2	2	1			
Su-17						2	2	1			
Su-19						2	2	1			
Ky-1						2	2	1			
Su-1					1		1	2	1		
Su-11					1		1	2	1		
A180(Type VI)										2	1
NCTC 4189**											2

* : Number of precipitation line ** : Type strain

4. 分離株の地域的な分布

病牛の発生地域と分離菌株（血清型）の地域的な分布を調べた。A. lignieresii が分離された12頭の産地とその分離株の血清型の地理的分布は Fig. 4 に示すとおりである。病牛は南九州地方の各地で発生し、A. lignieresii が分離された牛は散発的にみとめられ、地域的な偏りは認められなかった。また分離株の血清型にも地域的な偏りは認められなかった。

5. 血清疫学的調査

血清疫学的調査の成績は Table. 6 に示すとおり、161頭を調べたところ、外見的に健康な牛の抗体価は80倍以下が150頭（93.2%）、160倍が8頭、320倍が2頭であった。一方、A. lignieresii が分離された1頭の牛の抗体価は、5,120倍を示したが、この病牛と同じ群にいた牛の抗体価はすべて80倍以下であった。また牛の産地別にみても抗体価の分布に偏りは認められなかった。



Fig. 4 Regional distribution of *A. lignieresii* serotypes IV and V isolated from affected cattle.

考 察

今回の調査により南九州地方の広域に亘って牛のアクチノバチラス病が散発していることが明らかにされた。調査期間が平成3年12月から同5年6月までの短期間であり、調査の対象となった牛が主として県下の一と畜場だと殺に供されたものであったため、南九州全体の実態は把握できなかったが、年間を通じてかなりの経済的被害を与えていることが予想できる。

本病の発症機序としては、健康牛の口腔や第一胃内に常在している *A. lignieresii* が口腔粘膜面の創傷から組織内に侵入し、舌や頭頸部の軟部組織に膿瘍を形成し、その後、菌はリンパ管を通じて隣接または他のリンパ節に拡がり、まれに血中にも入り肺や肝臓、心筋、胸膜にも病変をつくると考えられている^{8,9,11,14}。今回調査した24頭のうち *A. lignieresii* が分離されたのは12頭(50%)であり、残りの12頭の膿瘍からは *A. lignieresii* は分離されず、*Actinomyces*

Table 6. Agglutinating antibody titers in sera collected from the apparently healthy and the affected cattle

Birth place of cattle examined	No. of cattle	No. of cattle in each antibody titer			
		≤1 : 10 1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 5120
A	36	34 (94.4%)	2		
B	36	33 (91.7)	2		1 *
C	83	78 (93.9)	4	1	
D	6	5 (83.3)		1	
Total	161	150 (93.2)	8	2	1

* : Serum from a cow infected with *A. lignieresii*

A : Kagoshima city and southern parts of Kagoshima Prefecture

B : Aira-county and northern parts of Kagoshima Prefecture

C : Osumi district of Kagoshima Prefecture

D : Other places or unknown ones

pyogenes, *Staphylococcus* sp. あるいは *Corynebacterium* sp. などの化膿菌が主に分離された。また上・下顎骨の中の膿瘍1例から *Actinomyces bovis* が分離された。牛のアクチノバチラス病の発病機構の解明あるいは本菌の分離法の改良のために選択分離培地^{9,10}の開発は今後検討に値する課題であろう。

A. lignieresii には Phillips¹²⁾ によって6つの血清型の存在が報告されている。今回我々が分離した12株について試験管内凝集反応とゲル内沈降反応を

行って型別を試みたところ、3株がIV型に、9株がV型に型別された。これらV型のうちSu-1およびSu-11の2株に凝集反応およびゲル内沈降反応で互いに交差することから、両者は血清学的に類似した株と考えられるが、V型に位置づけられた他の諸株とは抗原性が若干異なるので、現段階では一応V型の亜型(subtype)と位置づけたい。しかし、今回の調査では分離株数が少ないため明確な結論付けは差し控えたいと思う。*A. lignieresii* 基準株 NCTC 4189

は参照株A180 (VI型) と片側交叉が認められたが、他の株とはほとんど反応が認められないため型別できなかつた。

今回の調査において分離された株にIV型とV型が多数を占めたことはNakazawaら⁶⁾の報告と一致した。しかもその比率は1:3であり、Nakazawaら⁷⁾が行った調査結果(4型22.4%, 5型57.5%)と同様であった。このことは本菌のIV型とV型が上記の割合で全国的に分布していることを示唆している。しかし景森ら⁴⁾およびNakazawaら⁷⁾は、東京都芝浦と場でと殺に供された牛について全国的な調査を行い、I型からVI型のすべての血清型の存在を報告している。このことから、我国の牛のアクチノバチラス病にはI型からVI型のすべての *A. lignieresii* が関与しているが、今回の調査を含めIV型とV型が多いように思われる。

今回 *A. lignieresii* が分離された12頭の病牛は、南九州地方の各地に分散して存在していることが判明した。その発生は散発的であり、地域的な偏りは見られず、また分離株の血清型にも地理的な偏りは認められなかつた。さらに、*A. lignieresii* が分離された病牛から血清が採取されたのはわづか1頭に過ぎなかつたが、その血清のV型に対する凝集抗体価は5,120倍と高く、健康牛と病牛における抗体価には明らかな差が認められた。このことから凝集反応によって本病の血清学的診断ができる可能性が示唆されるが、陽性限界については明確ではない。本病の血清診断の目安として、Phillips¹¹⁾は160倍までの抗体価をもつ牛は正常であると報告している。今回の調査で320倍を示した牛が2頭いたが、これらの牛についての細菌検索はできなかつたので、この抗体価の意義は明らかではない。*A. lignieresii* は *Pasteurella haemolytica* などの細菌と共通抗原をもつと云われているので、本病の血清診断には慎重さが求められる。

要 約

鹿児島県末吉と畜場においてと殺に供せられた病牛22頭、鹿児島大学家畜病理学教室および家畜衛生試験場九州支場へ搬入され病性鑑定のためと殺された牛各1頭、計24頭についてアクチノバチラス病を疑い細菌学的検索を行った。これらの牛のうち12頭の頭頸部軟部組織等の膿瘍からグラム陰性の多形性の小桿菌が優勢に分離された。分離株は培養性状および各種生化学的性状により *Actinobacillus ligniere-*

sii と同定された。

加熱死菌抗原を用いる試験管内凝集反応および寒天ゲル内沈降反応により、これら分離株の血清学的性状を調べたところ、3株がIV型に、9株がV型に型別された。分離株(V型)のホルマリン死菌抗原を用いる試験管内凝集反応により、外見的健康牛160頭および病牛1頭の抗体価を調べたところ、病牛1頭は5,120倍を示し、健康牛のうち2頭は320倍を示したが、残りの牛はすべて160倍以下であった。この研究により、南九州地方の広い区域に牛のアクチノバチラス病が散発的に発生していることが明らかにされた。

文 献

- 1) Baker, P. J. and Wilson, J. B.: Hypoferremia in mice and its application to the bioassay of endotoxin. *J. Bacteriol.*, **90**, 903-910 (1965)
- 2) Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956)
- 3) Jensen, R. and Mackey, D. R.: Actinobacillosis. In *Disease of Feedlot Cattle*, 2nd ed. pp. 91-94, Lea and Febiger, Philadelphia (1971)
- 4) 景森令克, 鈴木妙子, 渡辺賢哉, 尾崎正美, 松本栄一, 田中重正, 中沢宗生, 東量三: 牛の Actinobacillosis (放線菌病) について. 東京都衛生局学会誌, **61**, 206-207 (1979)
- 5) Lignieres, J. and Spitz, G.: L' actinobacillose. *Bull. Mem. Soc. Centr. Med. Vet.*, **20**, 487-535 (1902)
- 6) Nakazawa, J., Azuma, R., Yamashita, T., Iwao, T. and Uchimura, M.: Collective outbreak of bovine actinobacillosis. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **39**, 549-557 (1977)
- 7) Nakazawa, M., Hiramune, T. and Azuma, R.: Serological variants of *Actinobacillus lignieresii* in slaughtered cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **41**, 89-90 (1979)
- 8) Nakazawa, M., Hiramune, T. and Azuma, R.: Determination of serovar of autoagglutinating strain of *Actinobacillus lignieresii* by gel precipitation test. *Microbiol. Immunol.*, **23**, 117-119 (1979)
- 9) Phillips, J. E.: The commensal role of *Actinobacillus lignieresii*. *J. Path. Bacteriol.*, **79**, 331-336 (1961)
- 10) Phillips, J. E.: Commensal actinobacilli from the bovine tongue. *J. Path. Bacteriol.*, **87**, 442-444 (1964)
- 11) Phillips, J. E.: The incidence of agglutinating antibodies to *Actinobacillus lignieresii* in the sera of normal and infected cattle. *J. Path. Bacteriol.*, **90**, 557-566 (1965)
- 12) Phillips, J. E.: Antigenic structure and serological typing of *Actinobacillus lignieresii*. *J. Path. Bacteriol.*, **93**, 463-475 (1977)
- 13) 松本栄一: と畜場からみた牛の疾病. 獣医界, **115**, 56-63 (1979)
- 14) Till, D. H. and Palmer, F. P.: A review of actinobacillosis with a study of the causal organism. *Vet. Rec.*, **72**, 527-533 (1960)

- 15) 東京大学医科学研究所学友会 (編) : 細菌の鑑別・同定, 微生物学実習提要, PP. 82-91, 丸善, 東京 (1988)

Summary

Bacteriological examinations were carried out on the sum total of 24 individuals of cattle which were suspected of being infected with bovine actinobacillosis.

Of these 24 individuals, 22 were slaughtered at Kagoshima Prefectural Sueyoshi-Abattoir, and the other 2 were autopsied at the following two organizations, namely, Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture of Kagoshima University and Kyushu Branch of National Institute of Animal Health.

Predominant isolation of a lot of small bacteria, Gram-negative and pleomorphic, was excuted from the subcutaneous abscesses formed in the soft tissues of the head and neck of the 12 individuals.

Based on the respective characteristics fixed culturally and biochemically, the isolated organisms were identified to be *Actinobacillus lignieresii*.

By means of the two sorts of test using heat-killed antigens, namely, the tube agglutination test and agar-gel-precipitation test, the 12 isolated strains of *A. lignieresii* were serologically differentiated into 2 types: serotype-IV, to which belonged 3 strains, and serotype-V, to which belonged 9 strains.

After the application of sero-epidemiological survey, by making use of the tube agglutination test using formalin-killed antigen (type-V), it was ascertained that in case of the apparently healthy 120 individuals, the ratio of the noted agglutinating antibody titers was 1:320 or less than that, while in that of the one seriously infected with actinobacillosis it was 1:5120.

These investigations clarified the fact that sporadic occurrences of the bovine actinobacillosis were prevailing in the wide areas in the South Kyushu districts.