

牛の病巣から分離された *Fusobacterium necrophorum* の亜種

新城敏晴 村上隆之 内田和幸 許 徳龍*
 芳賀 猛 後藤義孝†

宮崎大学農学部獣医学科 (〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1)

(2003年11月4日受付・2004年6月1日受理)

要 約

Fusobacterium necrophorum は現在 *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* と *F. necrophorum* subsp. *funduliforme* の2亜種に分類され、前者が病原性が強いとされている。しかし、後者も病巣から分離されることが報告されている。そこで、肝膿瘍以外の牛病巣由来 *Fusobacterium necrophorum* の保存菌株23株の亜種の同定を行ったところ、*F. necrophorum* subsp. *necrophorum* が9株、*F. necrophorum* subsp. *funduliforme* が14株であった。今後、*F. necrophorum* subsp. *funduliforme* の病巣における分布と感染に関与する他の菌についての研究が必要であろう。

——キーワード：牛病巣由来菌，壊死桿菌，亜種。

日獣会誌 57, 644～646 (2004)

Fusobacterium necrophorum はグラム陰性偏性嫌気性無芽胞桿菌で、人や動物の消化管内に生息しているが、条件によっては内因性感染を起こし、人や動物の膿瘍の原因となる [13]。本菌は以前 *Sphaerophorus necrophorus* と *S. funduliformis* の2菌種 [9] に分類され、前者が動物型、後者が人型と考えられていた。しかし、両者の鑑別を由来に依るのではなく、ニワトリ赤血球凝集性とすることが提案され [1]、その後、*S. necrophorus* と *S. funduliformis* の2菌種は、赤血球凝集性を有する *S. necrophorus* biovar A とその性状を欠く biovar B の1菌種、2生物型に分類された [2]。現在では、biovar A および biovar B はそれぞれ *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* と *F. necrophorum* subsp. *funduliforme* の1菌種2亜種に分類されている [12]。Subsp. *necrophorum* は主として肝膿瘍などの病巣から [7, 11]、subsp. *funduliforme* は消化管内から [6, 11] 分離されてきたが、牛の病巣からの subsp. *funduliforme* 分離報告例も散見されるようになった [4, 8, 10]。そこでわれわれは、牛の肝膿瘍以外の病巣から分離された23株の保存株について亜種の同定を行い、病巣における亜種の分布を調べた。

材 料 お よ び 方 法

剖検後無菌的に採取した材料あるいは分離培養のために搬入された材料を馬血液加 GAM 寒天培地^{a)} および変法 FM 培地^{b)} に直接塗抹して、炭酸ガス置換スチールウール法により、37℃、2～3日培養後グラム陰性偏性嫌気性桿菌を選抜して同定に供した。菌種の同定は VPI Manual [5] により、亜種の決定はニワトリ赤血球凝集性の有無によった [12]。参照株として JCM3718^T (= VPI2891) および JCM3724^T (= VPI6161) を供試した。

成 績

VPI マニュアルにより *F. necrophorum* と同定されたグラム陰性偏性嫌気性桿菌23株は、表1に示す通り、集落および菌形態、液体培地における発育性状、ニワトリ赤血球凝集性および DNase 産生性により2群に別けられた。1群の菌は subsp. *necrophorum* の、2群は subsp. *funduliforme* のそれぞれの基準株の性状に一致した。9株が subsp. *necrophorum* に、14株が subsp. *funduliforme* と同定され、subsp. *funduliforme* と同定

a) 日水製薬株，東京。 b) 日水製薬株，東京。

* 現所属：奄美看護福祉専門学校 (〒894-0771 名瀬市小湊外金久338-2)

† 連絡責任者：後藤義孝 (宮崎大学農学部獣医学科家畜微生物学教室)

〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1 ☎・FAX 0985-58-7275

表1 分離菌株の鑑別主性状

性状	分離菌株		参照菌株	
	1群 ¹⁾	2群 ²⁾	Fnn ³⁾	Fnf ⁴⁾
集落性状	扁平ラフ	凸スムーズ	扁平ラフ	凸スムーズ
菌形態	長桿菌	短桿菌	長桿菌	短桿菌
液体培地における発育	混濁	沈殿	混濁	沈殿
鶏赤血球凝集性	+	-	+	-
DNase	+	-	+	-

- 1) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *necrophorum* と同定された群
- 2) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *funduliforme* と同定された群
- 3) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *necrophorum* JCM 3718^T
- 4) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *funduliforme* JCM 3724^T

された菌株が多かった (表2)。敗血症、子牛肺炎および関節炎からは両亜種が、耳下腺膿瘍および大腿部膿瘍からは subsp. *necrophorum* が、門脈血栓、脳膿瘍および臍動脈周囲膿からは subsp. *funduliforme* が分離された。

考 察

牛の肝膿瘍から分離される *F. necrophorum* は、圧倒的に subsp. *necrophorum* が多く、また純粋状態で分離される例も多い [11]。また、マウスに対する病原性も subsp. *necrophorum* が強いことなどから、起病性については subsp. *necrophorum* に注意が向けられ、subsp. *funduliforme* はそれほど重要視されてこなかった。しかし、弱病原性とされてきた subsp. *funduliforme* が病巣から分離されることも報告されている [3, 4, 8, 10]。これまでの多くの報告で、生物型あるいは亜種の記載がないため、牛の病巣から分離される本菌の亜種の分離状況は明らかではない。

今回の調査で、牛肝膿瘍以外の病巣から弱病原性と考えられていた subsp. *funduliforme* が分離された。これらことから、subsp. *necrophorum* だけでなく、subsp. *funduliforme* にも注意を払う必要がある。又吉ら [8] は牛の脳膿瘍から subsp. *funduliforme* を純培養状に分離したが、その他の報告では混合感染例 [3, 4, 10] であった。牛肝膿瘍では 92 例中 85 例から subsp. *necrophorum* が分離され、その内 49 例は単独で、残りは他の菌との混合感染であった。一方 subsp. *funduliforme* は 14 例から分離され、単独分離は 1 例で、残りの 13 例は subsp. *necrophorum*, *Streptococcus* spp., *Arcanobacterium pyogenes* などと混合して分離された

表2 各症例における亜種の分布

由来	菌株数		
	Fnn ¹⁾	Fnf ²⁾	計
敗血症	4	4	8
子牛肺炎	2	2	4
脾膿瘍	0	4	4
関節炎	1	1	2
耳下腺膿瘍	1	0	1
大腿部膿瘍	1	0	1
門脈血栓	0	1	1
脳膿瘍	0	1	1
臍動脈周囲膿	0	1	1
計	9	14	23

- 1) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *necrophorum*
- 2) *Fusobacterium necrophorum* subsp. *funduliforme*

[11]. 今回は保存菌株を用いた *F. necrophorum* のみに
 ついての報告であるが、肝膿瘍菌検索例のような他の菌
 の分離も含めたより詳細な研究が今後必要であろう。

引用文献

- [1] Beerens H : Ann Inst Pasteur, 86, 384-386 (1954)
- [2] Fiévez L : Étude Comparée des Souches de *Sphaerophorus necrophorus* Isolées chez l' Homme et chez l' Animal, Presses Academiques Europeennes, Bruxelles (1963)
- [3] Goret P, Pilet CH, de Cadore F, Aladame N : Bul Acad Vet, 29, 413-418 (1956)
- [4] 後藤義孝, 村上隆之, 小池暁子, 許 徳龍, 芳賀 猛, 新城敏晴 : 日獣会誌, 56, 528-530 (2003)
- [5] Holdeman LV, Cato PE, Moore WEC : Anaerobic Laboratory Manual, 4th ed, Virginia Polytechnic Institute and state University, Blacksburg, VA, U.S.A. (1977)
- [6] Kanoe M, Imagawa H, Toda M : Bull Fac Agr Yamaguchi Univ, 26, 161-172 (1975)
- [7] Kanoe M, Imagawa H, Toda M, Sato A, Inoue M, Yoshimoto Y : Jpn J Vet Sci, 38, 263-268 (1976)
- [8] 又吉正直, 安里 仁, 玉代勢元太, 新城敏晴 : 日獣会誌, 54, 177-180 (2001)
- [9] Prevot AR : Manual de Classification et de Determination des Bacteries Anaerobies, pp 274-290, Masson et C^{ie}, Paris (1957)
- [10] Shinjo, T : Ann Microbiol (Institut Pasteur), 134 B, 401-409 (1983)
- [11] 新城敏晴 : ウシの肝膿瘍, 光岡知足編, 腸内フローラと感染症, 161-190, 学会出版センター, 東京 (1984)
- [12] Shinjo T, Fujisawa T, Mitsuoka T : Int J Syst Bacteriol, 41, 395-397 (1991)
- [13] Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE : Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals, 8th ed, 161-170, Comstock Publishing Associates, Ithaca and London (1988)

Subspecies of *Fusobacterium necrophorum* Isolated from Bovine Lesions

Toshiharu SHINJO, Takayuki MURAKAMI, Kazuyuki UCHIDA, XU De Long*,
Takeshi HAGA and Yoshitaka GOTO†

* *Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Miyazaki University,
1-1, Gakuen-Kibanadai-Nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan*

SUMMARY

Of the two subspecies into which *Fusobacterium necrophorum* is classified, *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* is more pathogenic than *F. necrophorum* subsp. *funduliforme*. We determined the subspecies of 23 strains of *F. necrophorum* isolated from bovine lesions other than liver lesions and stocked in our laboratory. Of them 9 strains were identified as *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* and the remaining 14 as *F. necrophorum* subsp. *funduliforme*. Further study of the distributions of *F. necrophorum* subsp. *funduliforme* in lesions and of other bacteria associated with infections may be necessary.

— Key words : bovine lesion isolates, *Fusobacterium necrophorum*, subspecies.

* *Present address : Amami Nursing and Welfare College 338-2, Kominato-Sotokanehisa, Nase-shi, Kagoshima 894-0771, Japan*

† *Correspondence to : Yoshitaka GOTO (Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Miyazaki University)
1-1, Gakuen-Kibanadai-Nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan TEL · FAX 0985-58-7275*

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 57, 644 ~ 646 (2004)

日本産業動物獣医学会誌編集委員会委員

【編集委員】

◎澤田 勉 (大阪府立大学大学院農学生命科学研究科)
○小川 博之 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
金田 義宏 (元・東京農工大学農学部)
佐藤 繁 (宮城県農業共済組合連合会事業部)
八木 行雄 (動物衛生研究所企画調整部)
明石 博臣 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
今井 壯一 (日本獣医畜産大学獣医畜産学部)

梅村 孝司 (北海道大学大学院獣医学研究科)
月瀬 東 (日本大学生物資源科学部)
中澤 宗生 (動物衛生研究所安全性研究部)
(◎委員長, ○副委員長)

編集人 日本産業動物獣医学会
会長 酒井 健夫

『* 投稿を希望される方は、学会誌投稿規程 (第56巻第12号) をご参照ください』