

# 土浦市近郊のと畜場においてと殺された豚からの *Haemophilus parahaemolyticus* の分離ならびに血清抗体価

白坂昭治・平間幸弘・中川 弘・土田英嗣

## *Haemophilus parahaemolyticus* Infections Found at Slaughter-Houses in the Suburbs of Tsuchiura

SHOJI SHIRASAKA, YUKIHIRO HIRAMA, HIROSHI NAKAGAWA and  
EIJI TUCHIDA

### 緒 言

1974年、尾田<sup>1)</sup>が新潟県下の豚の急死例から *Haemophilus parahaemolyticus* (以下 *H. parahaemolyticus* と記す) を分離し、わが国においても本菌に起因する豚の胸膜肺炎感染症があることを報告して以来、各地において本菌感染症の報告が見られるようになった。<sup>2), 3), 4)</sup>

著者らも1975年、豚の化膿性疾患の細菌検索時に肺膿瘍から高率に *Haemophilus sp.* が分離されることを報告したが<sup>5)</sup>、その詳細については未検討であった。

今回、1976年から1977年にかけて、土浦市近郊のAおよびBの2と畜場において豚の肺材料を採取し、本菌の検索を行うとともに、分離菌の性状を詳細に検討した。またと畜場と殺豚の血清について本菌の凝集抗体価をも測定したのでその成績を報告する。

### 実験材料および方法

供試材料：1976年4月から1977年7月にかけて、茨城県土浦市近郊のAおよびBと畜場において肺材料を採取した。また1977年9月、Aと畜場においてと殺された豚の血清を採取し、それらの豚の飼育生産地をも同時に聴取した。

細菌検索法：肺材料の小片を5%馬血液加トリプトソイ寒天(以下TSBと記す)、チョコレート寒天(TSB

を80℃5分間加熱させた培地、以下C-TSBと記す) およびBL寒天<sup>6)</sup>の3種培地にそれぞれ直接塗抹および画線し、TSBおよびC-TSBはそれぞれ37℃48時間好気培養およびローソク培養、BL培地は37℃72時間嫌気培養(スチールウール法)を行った。各培地に発育した菌は、そのコロニー性状およびグラム染色による形態を観察し、*Haemophilus* と考えられた2,3個の代表株を分離保存し、その後の詳細な性状検査に供した。生化学的ならびに血清学的性状検査：XおよびV因子の要求性はManual for The Identification of Medical Bacteria<sup>7)</sup> 記載の方法に準じて行った。また各種糖分解能その他の性状検査には、イーストエキス5%添加のブイヨンまたは寒天培地を用いて検した。

分離菌株の血清型別には、東京大学農学部獣医学科家畜微生物学教室から分与された *H. parahaemolyticus* serotype 1, serotype 2, および serotype 3 の家兔免疫血清を用い、試験管内凝集反応によって型別を行った。

組織検索法：材料組織を10%ホルマリン固定、パラフィン包埋後、8μ薄切組織標本を作製し、H・E染色を行い病理組織の検索を行った。

血清抗体価の測定：と殺豚血清276例につき凝集抗体価を測定した。抗原は *H. parahaemolyticus* HP 8 菌 (serotype 2) のブイヨン培養菌を常法に従って調製し、試験管血清希釈法により測定した。

実験成績

1. 肺材料の肉眼的所見と Haemophilus の検出

培養に供した 44 例の肺材料は肉眼的に以下の 4 群に類別された。

すなわち I. 横隔葉に限局性の暗赤色腫脹が見られるもの 16 例〔写真 1 および 2〕, II. 横隔葉に腫脹硬結があり, その内部は化膿巣になっているもの 12 例〔写真 3 および 4〕, III. 横隔葉の胸膜面に線維素の付着が見られるが, 肺実質には異常の認められないもの 6 例, IV. 病変の認められないもの 10 例であった。

これらの材料からの Haemophilus の検出成績は第 1 表に示す通りであった。

第 1 表 供試肺材料の肉眼的所見と Haemophilus の検出成績

類別(群)	肉眼的所見	培養	
		検体数	Haemophilus 陽性検体数
I	横隔葉に直径 1~5 cm の隆起した赤色~暗赤色腫脹。断面は赤色~タール状の出血。	16	14
II	横隔葉表面または内部に硬結腫脹。断面はザクロ状または球状の膿疱, 膿汁。	12	11
III	横隔葉胸膜面に線維素が一部附着するが, 肺実質には変状なし。	6	1
IV	正 常	10	0
合 計		44	26

すなわち, 本菌は I 群では 14/16 (88%), II 群では 11/12 (92%), III 群では 1/6 (17%) の割合で検出されたが, IV 群においては全く検出されなかった。また本菌は I および II 群ではほとんど純培養状に検出される場合が多かった。なお Streptococcus および Corynebacterium が各 1 例から高い菌数で検出されたが, Pasteurella は検出されても菌数は少数であった。

2. 分離された Haemophilus の生化学的性状と血清型

別

本菌陽性の 26 例の肺病変部から分離された 60 株の Haemophilus について, 溶血性, 運動性, カタラーゼ, オキシダーゼ, X, V 因子要求性, 硝酸塩還元, インドール産生, 硫化水素産生, VP, MR 反応および尿素分解試験を行い, さらに 20 菌株については各種糖分解能についても調べた。その結果, 供試菌株はすべて同一の性

第 2 表 分離 Haemophilus の生化学的, 血清学的性状

性 状 検 査 項 目	分離 Haemophilus	
グ ラ ム 染 色	—	桿 菌
溶 血 性	—	—
運 動 性	—	—
カ タ ラーゼ	—	—
オ キシダーゼ	—	—
X 因 子 要 求 性	—	—
V 因 子 要 求 性	+	+
硝 酸 塩 還 元	+	+
イ ン ドール 産 生	—	—
硫 化 水 素 産 生	—	—
V P	—	—
M R 反 応	—	—
ウ レーゼ	+	+
レ ーゼ	—	—
ト ラ マ ス ン 液	—	—
ア ラ ビ ノー ス	—	+
キ シ ロー ス	—	+
リ ム ノー ス	—	+
リ ボー ス	—	+
フ ラ ク トー ス	—	+
ガ ラ ク トー ス	—	+
マ ン ノー ス	—	+
グ ル コー ス	—	+
セ ロ ビ オー ス	—	+
ラ ク トー ス	—	+
メ リ ビ オー ス	—	+
サ ッ カ ロー ス	—	+
ト レ ハ ジトール	—	+
メ デ キ ス トロース	—	+
ラ イ フ ノー ス	—	+
イ ス ター リン	—	+
エ ス ク リン	—	+
ア ミ グ ダ リン	—	+
ア サ リ シ	—	+
ア ド ニ ッ ト	—	+
ズ ル チ ッ ト	—	+
グ リ セ ニ ッ ト	—	+
マ ン ニ ッ ト	—	+
ソ ル ビ ッ ト	—	+
イ ノ シ ッ ト	—	+
血清学的性状 (凝集反応)	Serotype	1 : 20
	"	2 : 320
	"	3 : 10 >

状を示し、その性状は第2表に示す通りであった。

すなわち本菌群はグラム陰性の無芽胞桿菌で、多形性は著しくなく、溶血性を有し、V因子のみを要求することから、*H. parahaemolyticus* と同定された。

ついで*H. parahaemolyticus* serotype 1, 2および3の家兎免疫血清を用いて試験管内凝集反応を実施したところ、供試菌株はすべてserotype 2の免疫血清に血清希釈320倍まで凝集し、本菌はserotype 2と型別された。

### 3. 組織学的所見

肉眼的類別のIおよびII群の組織変化は、ともにその程度の差はあるが細気管支腔内に多数の膿球が認められ、また細気管支周辺には膿球を混じた細胞浸潤や出血などがみられた。肺胞内には漿液および線維素の滲出、上皮

の脱落崩壊などがあり、化膿性漿液性線維素性気管支肺炎の所見であった〔写真5〕。

### 4. と殺豚の凝集抗体価とその分布

すでに述べたように、分離された*H. parahaemolyticus* は、すべてserotype 2に型別されたので、本血清型に属する菌株（HP8菌）を抗原とし、と畜場と殺豚の血清凝集抗体価の測定を行った。

その成績は第3表に示すように、本菌に対すると殺豚血清の凝集抗体価は10倍以下から160倍までの範囲にあった。すなわち抗体価10倍以下が全検査頭数の24.3%、10倍が32.2%、20倍が27.2%、40倍が12.7%、80倍が2.9%、160倍が0.7%であった。

また、と殺豚の飼育生産地別にみると、町村ならびに部落単位別に抗体価の高低分布に差がみられた。

第3表 と殺豚の生産地別血清抗体価

生産地 町村 部落	検 体 数	凝 集 抗 体 価					
		1 : 10 >	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160
A 1	12	1*	5	4	2	0	0
2	45	3	12	22	7	0	1
3	13	0	10	3	0	0	0
B 1	33	20	4	4	2	3	0
2	51	0	5	25	18	3	0
3	2	0	0	1	0	1	0
C .	11	3	0	2	4	1	1
D .	32	5	20	6	1	0	0
E .	24	4	12	7	1	0	0
F .	2	0	1	1	0	0	0
G .	20	4	16	0	0	0	0
H .	5	3	2	0	0	0	0
I .	26	24	2	0	0	0	0
合 計	276	67 (24.3)	89 (32.2)	75 (27.2)	35 (12.7)	8 (2.9)	2 (0.7)

備考：\* は検体数を示し、( )内数値は総検体数に対する百分率

## 考 察

今回の調査で、土浦市近郊のと畜場においてと殺された豚の肺炎材料から、*H. parahaemolyticus* が分離されることが確認され、またそれら分離菌株の血清型はtype 2であることが明らかになった。本菌型は1975年、張ら<sup>3)</sup>が東京都芝浦と畜場で豚病変肺材料から分離したもの

と同型である。

わが国における本菌の感染症については、1974年急死した豚からの分離報告<sup>1)</sup>がなされて以来、急性死や肺炎などの臨床例からの分離<sup>2), 4)</sup>ならびにと畜場と殺豚の病変材料からの分離<sup>3), 4)</sup>およびこれらの分離菌の感染実験<sup>8), 9)</sup>など多数報告されているが、本菌の自然感染の様相、被害

の実態ならびにその対策については、まだつまびらかにされていない。

ちなみに、茨城県々南と畜衛生検査所における昭和51年度集計によれば、豚のと殺検査頭数約70万頭に対し、胸膜炎は約5000頭(0.7%)、膿瘍4200頭(0.6%)、肺炎175,000頭(25%)であった。本調査において*H. parahaemolyticus*が分離された肺炎病変のうち類別Ⅲは検査所の分別では胸膜炎に、Ⅱは膿瘍に、Ⅰは肺炎に相当するものと考えられる。検査所の分別の肺炎には、豚流行性肺炎をはじめあらゆる肺炎病変が含まれているので、著者らのⅠに相当するものがどのような割合で含まれているかは不明である。また、*H. parahaemolyticus*は胸膜炎、膿瘍および肺炎と類別されたいずれの病変からも分離されていることを考えると、本菌感染症は相当な頭数になることが推察される。

なお、と畜場と殺豚血清の凝集抗体価の成績でも80倍以上では3.6%、40倍以上では16.3%の抗体保有豚があった。またその分布は生産地の町村又は部落別に高低の差が見られた。

1975年、加藤ら<sup>10)</sup>は新潟、富山、石川県におけると畜場豚血清について*H. parasuis*および*H. parahaemolyticus*を用いて同様の抗体調査を行っているが、その成績に比べて今回の土浦市近郊の豚の調査成績は、高い抗体価を示すものの出現割合が高率であった。

以上のことから、今後抗体価と宿主病変ならびに菌分離との関連性などについて、疫学的な調査と共に詳細な解明を行うことが必要であると考えられる。

## 要 約

茨城県土浦市近郊のと畜場で採取された肺材料44例の細菌学的検索成績およびと殺豚血清276例の*H. parahaemolyticus*に対する抗体調査成績は以下のとおりであった。

1. 腫脹、硬結を特徴とする肺炎病巣28例中25例(89%)から殆んど純培養状にグラム陰性桿菌が分離された。本菌は生化学的性状検査の結果*H. parahaemolyticus*と同定され、さらに凝集反応により serotype 2 に型別

された。なお肉眼的に正常な肺10例からは本菌は検出されなかった。

2. *H. parahaemolyticus* serotype 2 に対すると殺豚血清の凝集抗体価は、1:10>~1:160の範囲にあり、その分布は豚の飼育生産地の町村又は部落によって高低の差がみられた。

おわりに、実験材料の蒐集ならびに実験実施にあたって種々の御便宜、御協力をいただいた茨城県々南と畜衛生検査所の職員の方々および東京大学農学部獣医学科家畜微生物学教室の山本孝史博士に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 尾田進, 鶴巻藤太郎, 渡辺藤四郎, 鍋谷政広, 安原敏治, 富所寿男, 宮田萬司, 神野一夫, 池村謙吾: 日獣会誌, **28**, 584 (1975)
- 2) 鈴木達郎, 金子晋, 広池忠夫, 小野悦子, 古関設, 唐仁原景昭, 坂巻武, 新城恒二, 井上貢, 萩田恒男, 池田章夫, 布施絃一, 村島忠志, 桜井靖彦, 高橋孝夫, 菰田勝: 第79回日本獣医学会講演要旨, 31 (1975)
- 3) 張靖男, 山本孝史, 小西信一郎, 尾形学, 高橋令治, 深沢平, 渡辺賢哉, 尾崎正美, 佐藤富雄, 小峰晃: 第80回日本獣医学会講演要旨, 14 (1975)
- 4) 畜産局衛生課監修: 全国家畜保健衛生業績抄録(8), 33 (1977) 動物用生物学的製剤協会
- 5) 弁野義己, 村山稔, 中川弘, 白坂昭治, 光岡知足: 第81回日本獣医学会講演要旨, 124 (1976)
- 6) Mitsuoka, T., T. Segal and S. Yamamoto: Zbl. F. Bakt. I Orig., **195**, 455 (1965)
- 7) Cowan, S.T: Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. (1974) Cambridge University Press.
- 8) 加藤和好, 両角徹雄: 第81回日本獣医学会講演要旨, 132 (1976)
- 9) 張靖男, 山本孝史, 尾形学, 高橋令治, 久保由起子: 第83回日本獣医学会講演要旨, 27 (1977)

10) 加藤和好, 両角徹雄：第80回日本獣医学会講演要旨, 5 (1975)

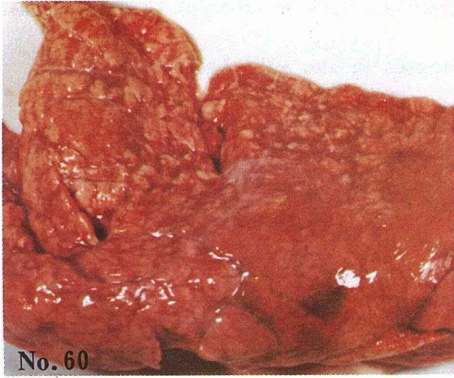


写真 1

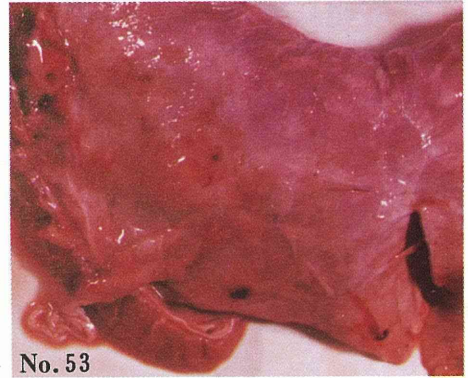


写真 3

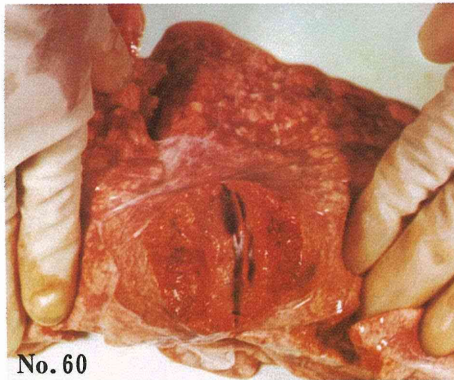


写真 2

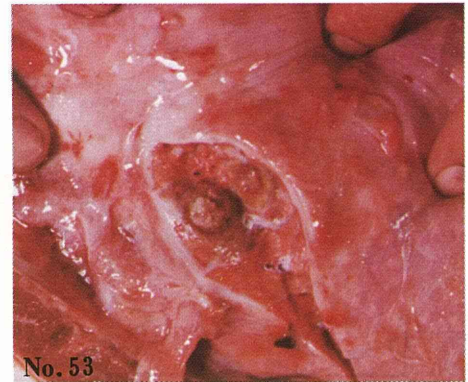


写真 4

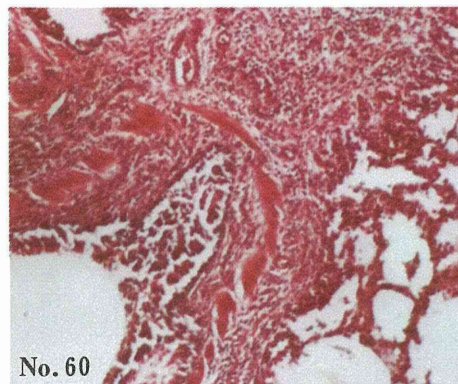


写真 5

### Summary

For the epidemiological survey of *Haemophilus parabaemolyticus* infection in swines, bacteriological examinations were made on 34 porcine pneumonic and 10 macroscopically normal lungs. In addition, agglutinating antibody titers against *H. parabaemolyticus* serotype 2 were measured with 276 serum samples.

These materials were collected at two slaughter-houses in the suburbs of Tsuchiura.

The results obtained were as follows.

1. Gram negative rod shaped organisms were isolated in nearly pure cultures from 25 out of the 28 pneumonic lungs characterized by swelling and/or induration. The isolated organisms were identified as *H. parabaemolyticus* by their biochemical properties and classified as serotype 2 by the tube agglutination test.

No *H. parabaemolyticus* was isolated from any of the 10 macroscopically normal lungs.

2. The agglutinin titer of the 276 serum samples varied between 1:10 or less and 1:160. There were appreciable differences of the antibody titer distribution among districts feeding the pigs.