

原 著

ブタ抗酸菌症をひき起こす *Mycobacterium avium*-
M. intracellulare complex の感染源

佐藤 明 正

神戸市環境保健研究所

穴 田 勝 進・松 尾 秀 輝・武 部 秀
佐 藤 良 平・松 田 守 弘

神戸市食肉衛生検査所

受付 昭和 61 年 10 月 28 日

SOURCES OF *MYCOBACTERIUM AVIUM*-*M. INTRACELLULARE* COMPLEX
INFECTION RESULTING IN SWINE DISEASE

Akimasa SATO*, Shoshin ANADA, Hideki MATSUO, Hiizu TAKEBE,
Ryohei SATO and Morihiro MATSUDA

(Received for publication October 28, 1986)

We have already reported an outbreak of swine mycobacterial lymphadenitis caused by *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex.

In the present study we investigated the distribution of mycobacteria in the environment of swine breeding.

M. avium-*M. intracellulare* complex was isolated from the fresh saw-dust prepared for bedding of pigs and from the old saw-dust used for bedding.

Serotypes of the strains isolated from the lymphonodes of the swine and the fresh saw-dust were compared. Serotypes were determined by agglutination reaction according to Schaefer's method^{13)~15)}.

The distribution of serotypes of the strains isolated from swine were limited in a few types. Out of 14 isolates, ten strains (71.4%) were serotype 8, two were serotype 9 and one was serotype 6. All of these strains belong to the "intermediate" group of Anz¹⁷⁾.

On the other hand, the serotypes of the strains isolated from the saw-dust were widely distributed. Out of 18 isolates, six strains (33.3%) were in the "intermediate" group, eight strains (44.4%) were in the "authentic" group and two strains (11.1%) were in the "other" group.

From these observations, it is suggested that swine which were bred on saw-dust spread on the floor, swallowed a lot of mycobacteria and killed most of them in their bodies. A few strains of serotype 8, 9 and 6 survived and produced tuberculous lesions in swine.

Nemoto et al.²²⁾ reported that serotypes of the strains isolated from Japanese patients caused by *M. intracellulare* were widely distributed and the serotype 8 was found rarely.

From the present study, the results are summarized as follow:

- 1) Saw-dust is a source of mycobacterial infection of swine.
- 2) Swine is not a significant source of human mycobacterial infection.

* From the Public Health Research Institute of Kobe City, 4-6, Minatojima-Nakamachi, Chuo, Kobe 650 Japan.

Key words: Atypical mycobacterial disease in swine, Source of infection, Saw-dust, Serotype

キーワード: ブタ非定型抗酸菌症, 感染源, オガクズ, 血清型別

はじめに

わが国におけるヒトの非定型抗酸菌症中、*Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex 感染による発症が圧倒的に多く、症例の約70%を占めている¹⁾。*M. avium*-*M. intracellulare* complex はヒトの喀痰以外に、家畜からしばしば分離されているが^{2) 3)}、稀に土壌⁴⁾ や水⁵⁾ から検出されている。特にブタの抗酸菌症は日本各地で発生しており^{5)~7)}、諸外国でも多発しており^{8)~10)}、ヒトの感染症とのかかわりについて広く論議されている。

このような中で、1978年1月~1980年12月の3年間に、神戸市食肉センターに搬入されてきた鳥取県産のブタの一群に *M. avium*-*M. intracellulare* complex による抗酸菌症の集団発生を確認し、その細菌学的特徴、病理学的特徴を報告してきた¹¹⁾。

今回は、ブタ飼育環境調査で得た分離菌株と、ブタ腸間膜リンパ節結核様結節分離株について、血清学的検討を加えたので報告する。

材料及び方法

1) ブタ飼育環境調査

ブタの解体検査で *M. avium*-*M. intracellulare* complex による抗酸菌症の集団発生を確認し、出荷業者(鳥取県N養豚場)の養豚環境を調査した。養豚関連試料として、豚舎敷料用として調製した新鮮なオガクズ、豚舎敷料として使用したブタの糞尿をも含む古いオガクズ、5種類の配合飼料(I, II, III, IV, V)、飲料水(井戸水)、及び豚舎入口附近の土壌を採取し、供試材料とし、抗酸菌の分離培養を実施した。

抗酸菌以外の微生物の発育を抑制するための前処理方法は、汎用のカセイソーダ法(4% NaOH)、硫酸法(4% H₂SO₄, 4% NaOH)、アクリフラビン法(0.1% Acriflavine, 4% NaOH)とともに、ベンザルコニウム法(0.1% Benzalkonium chloride, 4% NaOH)⁷⁾を併用した。各前処理方法における4倍量添加懸濁液0.1mlを3%小川培地に接種、37°Cで6週間分離培養した。

2) 分離菌株の同定方法

分離菌株の同定は、日本結核病学会抗酸菌分類委員会法¹²⁾に準拠した。

3) 分離菌株の血清型別試験

ブタ腸間膜リンパ節結核様結節病変分離株(以下ブタ分離株)の14株と、豚舎敷料用として調製した新鮮なオガクズから分離した18株(以下オガクズ株)、合計32株の

M. avium-*M. intracellulare* complex について、Schaeferの凝集試験法^{13)~15)}に従って血清型を試験した。

免疫血清の作成は、Schaefer博士より分与された *M. avium* 1-3, *M. intracellulare* 4-21, *M. scrofulaceum* 41-43の各標準血清型別菌株を免疫用抗原とし、schaeferの方法に基づいて自家作製した。また、同様に作成した山岡博士¹⁶⁾の免疫血清と一部比較検討し供試した。

血清の使用濃度は、標準同種抗原との反応で得た凝集素価の、2倍希釈系列で1段階低い希釈倍数の濃度(即ち2倍濃度)を working titer として用いた。

凝集反応の実際の術式は次の通り。7H10平板寒天培地あるいは7H11平板寒天培地上の発育菌体を、0.5%フェノール添加の0.9%食塩加里ン酸緩衝液(以下PBS)に懸濁、80°C30分間加熱、更にPBSを加えて吸光度(530nm)0.4の菌液を調整、これを抗原液とした。

この抗原液0.25mlを widal 反応用小試験管に分注、これにあらかじめ標準抗原で測定しておいた凝集素価の2倍濃度の抗血清0.25mlを加え、凝集反応を行った。判定は37°Cで2時間及び5時間後の凝集反応を観察、更に4°Cで16時間反応を続け、総合判断で血清型を判定した。

標準菌株で作成した免疫血清においても、一部の他型抗原との交叉凝集反応が存在するものがあるが、これらについては、その他型抗原と低温で反応させ、副凝集素を吸収して本試験に供試した。即ち、副反応を呈する標準菌株の0.5%フェノール加M/15PBS均等浮遊液を3,000rpm、15分間遠心、得られた packed cell を秤量。この packed cell 20mg 当り10倍希釈免疫血清1mlを加え、4°Cで16時間反応させた。この反応懸濁液の3,000rpm、20分間遠心。上清より吸収免疫血清を得、新たに凝集素価を測定した。

これらの予備試験を行った上で、被験菌株の血清型別試験を実施した。

成績

1) 畜舎環境からの抗酸菌の分離

ブタに抗酸菌症の集団発生があったN養豚場の畜舎環境を調査し、抗酸菌の分離試験を実施したが、その結果を表1に示した。

抗酸菌が検出された供試材料は、豚舎敷料用として調製された新鮮なオガクズや、豚舎敷料として使用したブタの糞尿をも含む古いオガクズ、1月齢豚用配合飼料(I)、3~4月齢用配合飼料(IV)、5~6月齢用配合

Table 1. Mycobacteria Isolated from the Enviroment of the Swine Breeding

| Sample | Mycobacterial straining isolated | | | |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------|-----------|------------|
| | Group I | Group II | Group III | Group IV * |
| Flesh saw-dust | - | + | + | + |
| Saw-dust used as bedding | - | + | + | + |
| Compound feed | | | | |
| I (for 1 month old) | - | - | + | + |
| II (for 1 or 2 months old) | - | - | - | - |
| III (for 2 or 3 months old) | - | - | - | - |
| IV (for 3 or 4 months old) | - | - | - | + |
| V (for 5 or 6 months old) | - | + | - | + |
| Drinking water (well water) | - | - | - | - |
| Soil taken from two meters away from the entrance of the piggery | - | + | + | + |

* Runyon's grouping

飼料 (V), 及び豚舎入口附近の土壌であった。

ブタ腸間膜リンパ節結節の起因菌種である *M. avium*-*M. intracellulare* complex は、新鮮なオガクズ及び豚舎の敷料オガクズからのみ分離された。配合飼料 (I, IV, V) の抗酸菌は *M. fortuitum* を中心とする迅速発育菌群 (Runyon のIV群菌) であった。豚舎入口附近の土壌からも多数の抗酸菌が検出されたが、その菌種は、主には *M. fortuitum* であり、次いで *M. nonchromogenicum* complex (III群菌), *M. scrofulaceum* (II群菌) であった。

従って、ブタ腸間膜リンパ節結節起因菌の *M. avium*-*M. intracellulare* complexの感染源は豚舎敷料用として調製されたオガクズであると推察した。

2) ブタ腸間膜リンパ節結節分離株とオガクズ分離株の血清型

腸間膜リンパ節に結核様結節を形成させたN養豚場ブタ病巣株 (ブタ病巣分離株) 14株と、オガクズから分離した18株、合計32株についての血清凝集反応試験結果を表2に示した。

Anz¹⁷⁾ はニワトリに対する病原性の強弱から、*M. intracellulare* をグループに分けている。*M. avium* について強い毒性を有するグループを“intermediate” (新血清型表示法では4, 5, 6, 8, 9, 10, 11型) とし、弱毒グループを“authentic” (血清型では14, 16, 18, 19, 20型) に分類している。その後に見えられた血清型に7, 12, 13, 15, 17, 21型があるので、表2ではこれらを“other”グループとして表示し、分離菌株の血清型の分布を比較した。

今回調査したブタ病巣分離株の血清型は、6, 8, 9型に限局しており、ともに“intermediate”グループに属す

るものであった。

一方、ブタ飼育環境株であるオガクズ分離株では、“intermediate”グループが6株、“authentic”グループが8株、“other”グループが2株、*M. scrofulaceum* の42型が1株、不明が1株であった。オガクズ分離株では血清型14, 16型が多少多く存在する傾向にあるが、広範囲な血清型の分布を示した。

型別不明株はブタ病巣分離株とオガクズ分離株に各々1株ずつあったが、これらの株は広範囲な標準免疫血清と反応し、その反応も弱かった。

考 察

ブタの *M. avium*-*M. intracellulare* complex 感染症の感染源調査については、成田ら⁷⁾ と三輪ら¹⁸⁾ はともに静岡県 の事例について、Dalchow と Nassal¹⁰⁾ は西ドイツでの事例についてそれぞれ報告しているが、感染源はいずれも豚舎敷料用のオガクズが関与していた。

著者らの今回の調査結果も同様に、オガクズが感染源であった。

ブタ病巣分離株とオガクズ分離株の血清型の分布のしかたは異なっていた。

ブタ病巣分離株では14株中10株が8型で一番多かった。次いで2株が9型、1株が6型、1株が不明であった。判明した13株は、すべて Anz¹⁷⁾ の“intermediate”グループに属するものであった。

一方、ブタ飼育環境株であるオガクズ分離株では、18分離株が11種類の血清型に分かれた。オガクズ分離株の8型は1株だけであった。

オガクズ中の8型菌は多くないのに、ブタ病巣株では

Table 2. Serotype of the Mycobacterial Strains Isolated from the Mesenteric Lymphadenitises of the Swine and from the Saw-dust Made in 22 Saw-mills

| Serotype classified by Anz W. | Serotype | Number of the strains isolated from swine | Number of the strains isolated from saw-dust |
|-------------------------------|----------|-------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <i>M. avium</i> | 1 | | |
| | 2 | | |
| | 3 | | |
| <i>M. intracellulare</i> | 4 | | 1 |
| | 5 | | 1 |
| Intermediate | 6 | 1 | 1 |
| | 8 | 10 | 1 |
| | 9 | 2 | 2 |
| | 10 | | |
| | 11 | | |
| Authentic | 14 | | 3 |
| | 16 | | 3 |
| | 18 | | 2 |
| | 19 | | |
| | 20 | | |
| Other | 7 | | |
| | 12 | | 1 |
| | 13 | | |
| | 15 | | 1 |
| | 17 | | |
| | 21 | | |
| <i>M. scrofulaceum</i> | 41 | | |
| | 42 | | 1 |
| | 43 | | |
| Not clear | | 1 | 1 |
| The total number | | 14 | 18 |

多いということは興味あることである。この意味することは……オガクズ中には広範囲な血清型を示す *M. intracellulare* 群が存在し、これらがブタに経口摂取されて、ブタに対して比較的毒性の強い8型菌を中心に“intermediate”のグループの菌がブタ体内で生き残り、親和性のある腸間膜リンパ節に病巣を形成すると推察した。

ブタ分離株の血清型については、Schaefer¹⁹⁾はアメリカのブタについて検討しており、8, 9, 3, 4, 5, 12, 18型の順に多いと報告している。わが国では、柚木ら²⁰⁾は北海道のブタを調査し、8, 4, 9型の順に多いことを、東村と根本²¹⁾は立川の入荷ブタを調査し、同様に8型、4型が多いことを報告している。

今回調査した、著者らの、鳥取県産のブタにおいても8型が主であった(10/14)。9型も2株分離されたが、Schaeferや柚木らの指摘のない6型が14株中1株あっ

た。

6型を検出した例には、オーストラリア産ブタについて調査した Reznikov ら⁸⁾の報告がある。オーストラリアのブタでは、7, 8, 14型の順に多く検出され、6型は69株中2株検出されたとしている。

ブタ病巣分離株の血清型でアメリカ、オーストラリア、日本で共通して多いのは8型であるが、他の型では地理的差異があると思われる。

一方、ヒトの *M. intracellulare* 症の病態は、主に肺に病巣を形成し、腸間膜リンパ節に病巣を形成するブタの病態とは異なる。ヒト肺分離株の血清型については、アメリカの患者分離株について検討した Schaefer¹⁴⁾の報告、日本の患者分離株については根本ら²²⁾の報告がある。アメリカの患者分離株では、14, 8, 16, 9, 4, 6, 7, 12, 13, 18, 20, 17, 3, 5型の順に多く検出され、日本の患

者分離株では、15,16,9,18型が多く、次に8,20,14型があり、4,6,19型も少数検出されたとしている。Schaeferや根本らの成績は、患者分離株の血清型は広範囲に分散していることを示している。

今回著者らが調査したブタ飼育環境の一つであるオガクズから、*M. avium*-*M. intracellulare* complex を分離した。その分離株の血清型は広く分散していた。それにもかかわらず、ブタ病巣分離株の血清型は“intermediate”グループに局限しており、中でも8型が大部分を占めていた。ブタは一種の選択フィルターとなっていると考えられた。

結 論

1) 鳥取県のN養豚場において、ブタの *M. avium*-*M. intracellulare* complex による抗酸菌症の集団発生があった。感染源調査の結果、豚舎敷料用のオガクズから同菌種が検出された。他の養豚関連試料（配合飼料や飲料水、豚舎入口附近の土壌）は陰性だったので、当感染症の感染源は豚舎敷料用のオガクズであると推察した。

2) ブタ病巣分離株とオガクズ分離株の血清型別試験を実施した。ブタ病巣株の血清型はすべて“intermediate”グループに属し、試験菌株14株中8型が10株、9型が2株、6型が1株であり、不明が1株であった。

オガクズ分離株では8型は試験菌株18株中1株だけだった。グループ別では、“intermediate”が6株、“authentic”が8株、“other”が2株、*M. scrofulaceum* の42型が1株であり、不明が1株であった。

このように、ブタ病巣分離株の血清型は、8型を中心とした“intermediate”グループに局限している。しかし、オガクズ分離株の血清型は広く分散している。

3) 今回の調査対象となったブタ抗酸菌症の集団発生の機構は次のように考えられる。

種々の血清型の *M. avium*-*M. intracellulare* complex がオガクズ中に多数存在しており、そのオガクズが豚舎敷料として使用された。ブタは経口的にそれらの菌を摂取した。そしてブタは一種の選択フィルターとして作用し、ブタにとって毒性の強い8型菌を中心とする“intermediate”グループが生き残り、ブタ体内に病変を形成させたと考察する。

4) ヒトの *M. intracellulare* 症の患者分離株の血清型は広く分散しており、8型が特に多いことはない。従ってブタはヒトの *M. intracellulare* 症の重要な感染源にはなっていない。

謝 辞

血清型別試験法のご指導、ご協力を頂きました柚木弘之博士、山岡弘二博士に厚くお礼申し上げます。またご

校閲を賜りました松田良夫疫学部部長に謝意を表します。

本論文の要旨は、第58回日本結核病学会総会（京都、1983年）及び第23回日本公衆衛生学会近畿地方会（神戸、1984年）において発表した。

文 献

- 1) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：日本における非定型抗酸菌感染症の研究（1983年度報告），結核，60：299，1985.
- 2) Reznikov, M. and Leggo, J. H. : Examination of soil in the Brisbane arear for organisms of the *Mycobacterium avium*-*intracellulare*-*scrofulaceum* complex, Pathology, 6:269, 1974.
- 3) Reznikov, M. : Further investigations of an outbreak of mycobacterial lymphadenitis at a deep-litter piggery, Aust Vet J, 47:622, 1971.
- 4) Wolinsky, E. and Rynearson, T. K. : Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strain, Amer Rev Resp Dis, 97:1032, 1968.
- 5) 後藤半十郎他：豚の非定型抗酸菌症の感染源追究の考察，獣医畜産新報，728:140，1982.
- 6) 宮下 司他：豚のリンパ節とくに腸間膜リンパ節に多発する結核様病変に関する病原学的研究，日獣会誌，25:76，1972.
- 7) 成田 昌他：*M. avium*-*M. intracellulare* complex による豚の非定型抗酸菌症の集団発生例と、その防止対策について，獣医畜産新報，706:281，1980.
- 8) Reznikov, M. et al. : Mycobacterial lymphadenitis in pigs on the Darling Dows, Aust Vet J, 49:264, 1973.
- 9) Meissner, G. and Anz, W. : Souces of *Mycobacterium avium* complex infection resulting in human diseases, Amer Rev Dis,116:1057, 1977.
- 10) Dalchow, W. und Nassal, J. : Mykobakteriose beim Schwein durch Sägemehleinstreu, Tierarztl Umschau, 34:1, 1979.
- 11) 穴田勝進他：*Mycobacterium avium*-*M. intracellulare* complex によるブタの抗酸菌症-(1)検出状況について，神戸市環境保健研究所研究報告，14:7，1981.
- 12) 日本結核病学会抗酸菌分類委員会：臨床材料に見出される抗酸菌とその鑑別・同定法，結核，51:247,1976.

- 13) Schaefer, W. B. : Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination, Amer Rev Resp Dis, 92 : 85, 1965.
- 14) Schaefer, W. B. : Serologic identification of the atypical Mycobacteria and its value in epidemiologic studies, Amer Rev Resp Dis, 96 : 115, 1967.
- 15) Schaefer, W. B. : The type specificity of the atypical mycobacteria in agglutination and antibody absorption tests, Amer Rev Resp Dis, 96 : 1165, 1967.
- 16) 山岡弘二 : ブタ由来の非定型抗酸菌に関する研究—Ⅲ 血清学的研究, 広島大学医学雑誌, 26 : 45, 1978.
- 17) Anz, W. et al. : Vergleich von Sensitin-Testen an Meerschweichen mit Serotyp und Huhnervirulenz bei *M. avium* und *M. intracellulare*-Stammen, Zbl Bakt 1 Org, 215 : 536, 1970.
- 18) 三輪憲永他 : 豚の非定型抗酸菌症の感染源・感染経路について, 食品衛生研究, 31 : 359, 1981.
- 19) Schaefer, W. G. : Incidence of the serotypes of *Mycobacterium avium* and atypical mycobacteria in human and animal disease, Amer Rev Resp Dis, 97 : 18, 1968.
- 20) Yugi, H. et al. : Serotype of *Mycobacterium intracellulare* of porcine origin, Nat Inst Anim Hlth Quart, 12 : 168, 1972.
- 21) Tsukamura, M. and Nemoto, H. : A taxonomic study of *Mycobacterium intracellulare* isolated from swine, Jap J Microbiol, 17 : 91, 1973.
- 22) Nomoto, H. et al. : Serotype of *Mycobacterium avium*-*Mycobacterium intracellulare* complex that caused lung disease in Japan, Japan J Microbiol, 19 : 69, 1975.