

ボルデテラ属菌

林元展人
公益財団法人実験動物中央研究所
ICLAS モニタリングセンター

要 約

ボルデテラ属にはヒトに感染する百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) やパラ百日咳菌 (*B. parapertussis*) をはじめ、七面鳥コロリーザの起原菌である *B. avium* など様々な動物の呼吸器感染症起原菌が含まれている。実験動物の分野では、イヌ、ウサギ、ブタ、モルモット、ラットなどに呼吸器感染症を引き起こす *B. bronchiseptica* が古くよりその存在を知られており、統御対象として微生物モニタリング項目に設定されている。最近、同じくボルデテラ属に含まれる *B. hinzii* がマウスの呼吸器感染症を引き起こすことが明らかとなり、実中研 ICLAS モニタリングセンターでは本菌をオプション項目として検査項目に加えた。本稿では、実験動物に呼吸器感染をおこす2つのボルデテラ属菌、*B. bronchiseptica* ならびに *B. hinzii* について解説をする。

1. 細菌

B. bronchiseptica (Bb)：グラム陰性の短桿菌で、過去にはブルセラ属やヘモフィルス属などにも分類されたこともあったが、1952年に正式にボルデテラ属の菌種となった。栄養要求性は厳しくなく、普通寒天培地にも十分発育する。また、DHL寒天培地にも発育可能なことから、汚染の程度が高いサンプルからBbを分離する際に本培地はよく使用される。血液寒天培地上では、37℃、48時間培養で3mm程度の不透明、灰白色のコロニーを形成する。Bbは寒天培地上で継代をすると相変異という現象を示し、その形態、病原性を変異させることが知られている [5]。I相菌は溶血性を示し、マウスに対し強い病原性を示す。菌体は易熱性抗原を持つ莢膜と短い鞭毛を持つ。III相菌は溶血性も示さず、マウスに対する病原性も弱い。菌体は莢膜を失い、長い鞭毛が存在する。II相菌は両者の中間移行型である。III相菌がさらに変異し、ラフ型となったものは莢膜ならびに鞭毛も欠く。

B. hinzii (Bh)：グラム陰性の桿菌で、過去には *B. avium*-like や *Alcaligenes faecalis* type II などと呼ばれており、1995年に現在の種となった。Bb同様栄養要求性は厳しくなく、普通寒天培地にも発育する。また、DHL寒天培地にも発育可能である。血液寒天培地上

では37℃、48時間培養で3mm程度の不透明、灰白色のコロニーを形成する。明瞭な溶血環は形成しないが、コロニー密度の高い場所では溶血が確認できる。

2. 宿主、病原性

Bb：イヌ、ウサギ、ブタ、モルモット、ラットなどの上部気道の粘膜上皮に定着する。自然感染下では幼若な動物を中心に鼻炎、気管支炎、気管支肺炎などの呼吸器疾患を引き起こし、死亡させることもあるが、成体において多くは不顕性感染で推移する。発症した際は、発咳、鼻汁の漏出など様々な呼吸器症状を呈する。

Bh：マウスの上部気道の粘膜上皮に定着する。感染により鼻炎、気管炎、気管支炎、気管支肺炎などの呼吸器疾患を引き起こすが、自然感染下のマウスでは、不顕性感染で推移するものも多い。鼻炎に伴う異常呼吸音が主な症状であるが、時に努力性呼吸が認められる場合もある。Bhの実験感染では、免疫機能を持つ系統のマウス (ICR) では死亡することはないが、免疫不全系統のマウス (NOD-scid) では重度の間質性肺炎を引き起こし、死亡する場合もあることが明らかになっている [3]。

著者はラットからのBh分離例を2例経験してい

る。これらのラットは臨床症状を示さず、剖検所見でも異常は認められなかった。いずれのラットも過去にマウスで Bb 感染が明らかとなっている特定の施設由来であり、マウス由来の Bb の伝播が疑われた。これらの事例以外にラットからの Bb 分離例はないことから、ラットは本菌の特異的な宿主ではないと推察される。また、シチメンチョウやニワトリなどにおいては、本菌は一般的に日和見病原体とみなされているが、分離株間により病原性が異なるとの報告もある [7]。以上の結果から、Bb の感受性宿主はマウスと一部の家禽と考えられる。

3. 感染経路

Bb, Bh とも鼻汁や上部気道粘液などを介した飛沫感染が主な感染経路である。また、Bh は糞中にも排泄されるため、糞便も感染源になりうる。

4. 検査法

Bb, Bh とも菌分離後の生化学的性状検査による同定が一般的に用いられている。菌分離は鼻腔スワブや気管スワブを血液寒天培地などの非選択培地や、DHL 寒天培地などの選択培地に塗抹し、37℃、48 時間培養後にコロニーを確認することにより行う。Bb の種同定は API 20NE (シスメックス・ビオメリユー) などの市販の生化学的性状検査による同定キットで可能である。しかし、Bh を同定できる市販の生化学的性状検査同定キットはなく、API 20NE キットでは *B. avium* (ID コード 0000067, 96.6%, good identification) と同定される。Bh と *B. avium* の区別のためにはマロン酸塩からのアルカリ産生試験が有効であり、Bh はこの試験で陽性を示す [4]。実中研 ICLAS モニタリングセンターでは、菌分離後の菌種同定のための 1 つの方法として、Bb には鞭毛蛋白遺伝子をターゲットにした PCR を、Bh には *gyrB* 遺伝子をターゲットにした PCR を構築し、生化学的性状検査と併用している。

Bb では、抗体検査 (マイクロタイター法による凝集反応) も有効である [6]。これは抗原液 (ホルマリンにより不活化した菌) に被検血清を感作させ、凝集を確認する方法である。

菌分離を介さず、サンプルから直接核酸検出を目的とした PCR も有効と思われる。しかし著者の知る限りでは、実験動物の微生物モニタリング検査を目的とした Bb, Bh への本法の適用報告例はない。

5. 汚染の現状

Bb: 実中研 ICLAS モニタリングセンターでは 2010 年にラット 3,646 検体 (233 施設由来), モルモット 199 検体 (スワブサンプル含む, 41 施設由来), ウサギ 285 検体 (スワブサンプル含む, 41 施設由来) に対し Bb の培養検査を実施した。そのうち陽性例はウサギ 3 検体 (3 施設由来) のみであった。このことから、現在、本菌の汚染は、実験動物としてのラット、モルモットではほとんど見られないものの、ウサギでは散見されることがわかる。

Bh: ICLAS モニタリングセンターでは、2010 年に、製薬企業 127 施設由来のマウス 731 検体、ならびに大学・研究所の 1,572 施設由来のマウス 12,192 検体に対し本菌の調査を行った。その結果、製薬企業由来のマウスに陽性例はなかったものの、44 施設由来の 195 検体のマウスにおいて本菌が検出された (大学、研究所における施設汚染率: 2.8%)。この汚染率は、当センターにおける同時期の *Helicobacter hepaticus* (施設汚染率: 3.2%) と同程度であった。また、この Bh 陽性検体の中には、海外輸入動物の検疫用個体も数例含まれていることや、過去に著者が海外の動物施設の獣医師から本菌の汚染例の相談を受けた例もあることから、海外にも本菌汚染施設があると推察される。

6. 感染制御・対策

Bb, Bh の汚染を防ぐためには、搬入動物の検査をしっかりと行うことが重要である。また、定期的に微生物モニタリング検査を行い、陰性を確認し続けることも重要である。両菌とも、保菌個体から他個体への伝播力は強く、比較的容易に感染が成立することから、おとり動物を用いたモニタリング検査でも摘発可能である。もし、感染が起きた場合は、感染拡大の防止のため、感染動物の淘汰が第一選択肢となる。1950-60 年代にウサギ、モルモットなどの Bb 感染症では抗生物質での治療が試されていたが [1, 2], その評価は様々で、現在ではあまりすすめられない。Bb, Bh 感染動物は帝王切開や子宮切断、胚移植などで清浄化が可能であり、確実な清浄化を求めるのであれば、そちらをすすめる。

7. 今後の展望

実験動物の感染症分野において、Bb は過去に多くの研究者の研究対象とされ、情報が蓄積されており、積極的な微生物学的コントロールが行われてきた。

一方で Bh は病原性が明らかになってから日が浅く情報が限られている。現在、わが国のマウス大規模生産業者での Bh 汚染はなく、一部の系統維持・実験施設で汚染がみられるようである。これらの施設での微生物学的な品質の改善が進むにつれ、Bh の汚染率は低くなると思われる。

参考文献

1. Genaway, J.R., Allen, A.M., and McPherson, C.W. 1965. Prevention acute *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in guinea pig colony. *Lab. Anim. Care* 15: 156–162.
2. Hagan, K. 1967. Effect of antibiotic-sulfonamid therapy on certain microorganisms in the nasal turbinates of domestic rabbits. *Lab. Anim. Care* 17: 77–80.
3. Hayashimoto, N., Yasuda, M., Goto, K., Takakura, A., and Itoh, T. 2008. Study of a *Bordetella hinzii* isolate from a laboratory mouse. *Comp. Med.* 58: 440–446.
4. Kattar, M.M., Chavez, J.F., Limaye, A.P., Rassouljian-Barrett, S. L., Yarfitz, S. L., Carlson, L.C., Houze, Y., Swanzy, S., Wood, B.L. and Cookson, B.T. 2000. Application of 16S rRNA gene sequencing to identify *Bordetella hinzii* as the causative agent of fatal septicemia. *J. Clin. Microbiol.* 38: 789–794.
5. Nakase, Y. 1957. Studies on *Hemophilus bronchisepticus* II. Phase variation of *H. bronchisepticus*. *Kitasato Arch. Exp. Med.* 30: 57–72.
6. Ogata, M., Kodama, Y., and Koshimizu, K. 1973. Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine IV. Agglutination test with formalized antigen for *Bordetella bronchiseptica* infection in pigs. *Jpn. J. Vet. Sci.* 35: 149–155.
7. Register, K.B. and Kunkle, R.A. 2009. Strain-specific virulence of *Bordetella hinzii* in poultry. *Avian. Dis.* 53: 50–54.