

## SPF ラット室のラットから検出されたグラム陰性短桿菌

鍵山壮一郎、桂智映子、愛原勝巳、田島 優、黒澤 努  
大阪大学医学部附属動物実験施設

【背景】当初、大阪大学医学部附属動物実験施設では *Pasteurella pneumotropica*(P.p)の検査法は、咽喉頭 swab を液体培地で増菌培養したものから菌のDNAを抽出し、WangらのP.p特異プライマーを用いてPCRを行い、特異的なDNA産物の有無によって判定を行っていた。この方法で当施設のラットから特異的なDNA産物がしばしば検出され、P.p感染が示唆された。しかし、血液寒天を用いて菌の分離を試みたが、コロニーを得ることはできなかった。その後チョコレート寒天培地を分離用培地として試験的に用いたところ、ラットの咽喉頭から高率に灰白色のコロニーが分離され、Wangのプライマーにも反応した。また、生化学試験を行ったところ、コード表からP.pであるとの判定結果が得られた。この菌は、血液寒天に増殖しない場合があるなど、典型的なP.pとは言えないことから、同定するためにはより詳細な検討が必要であると考え、従来からの方法に加え遺伝子学的な手法を用いて検討した。

【材料と方法】使用した菌株は標準株としてATCC由来35149,12555,13669,33391,33392, 実中研由来N8, 被検株としてラットからの分離株数株を用いた。培養にはチョコレート寒天培地と5%ヒツジ血液寒天培地を用い、37℃好気培養した。生化学試験はニッスイのIDテストを用いた。栄養要求試験にはヘモフィリスID4分画培地(BD)を用いた。PCRのプライマーはPPN-1(Wangら1996)、PPF-1(Nozuら1999)、peace(Bootzら1998)を用いた。塩基配列はpeaceで増幅した16SrDNA494bpを3100 Genetic Analyzer (Applied BioSystems)を用いて測定した。

【結果と考察】コロニーの形状は灰白色の光沢のある直径約3mmの大きさであり、菌体はグラム陰性の小短桿菌でP.pに類似していた。増殖に第1因子を要求する株があったが、生化学試験ではコード表からP.pと判定された。ATCC35149とOR71の塩基配列は、不一致率が1.6%、OR151との間では2.23%であり、P.pと同種と判定しても矛盾がないことが示された。このことから、本菌は現行の分類におけるP.pの可能性が高いと思われた。