

重症慢性肺炎罹患牛の気管支肺胞洗浄液からの 細菌分離と薬剤感受性

藏前哲郎^{1),2)} 石川真悟^{2),3)} 林 淳^{2),4)} 津曲圭太^{2),5)}
乙丸孝之介^{2),3)} 帆保誠二^{2),3)†}

- 1) 鹿児島県 開業 (株藏前動物病院：〒899-6201 始良郡湧水町木場 3209-2)
- 2) 山口大学大学院連合獣医学研究科 (〒753-8511 山口市吉田 1677-1)
- 3) 鹿児島大学共同獣医学部 (〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24)
- 4) みやざき農業共済組合 (〒880-0852 宮崎市高洲町 280)
- 5) 曾於農業共済組合 (〒899-8212 曾於市大隅町月野 2253)

(2019年3月12日受付・2019年8月20日受理)

要 約

本研究では、臨床的に重症慢性肺炎と診断された黒毛和種牛 50 頭から鼻咽頭スワブ (Swab) 及び気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取し、細菌分離とともに、その薬剤感受性を調査した。Swab 及び BALF からはおもに *Mycoplasma bovis* 及び *Pasteurella multocida* が分離されたが、同一牛において両検体から同一細菌種が分離された割合は比較的低かった。また、BALF から分離された *M. bovis* 及び *P. multocida* は、おもにフルオロキノロン系抗菌薬に感受性であったが、Swab から分離された同 2 菌種の同系抗菌薬に対する薬剤感受性は低かった。以上より、重症慢性肺炎罹患牛の鼻咽頭領域及び気管支肺胞領域からは、おもに *M. bovis* 及び *P. multocida* が分離されるが、同一供試牛から分離された同一菌種の細菌であっても、薬剤感受性が異なる可能性があることから、重症慢性肺炎罹患牛において Swab による肺炎原因菌の推定には慎重を要すると思われた。

——キーワード：薬剤感受性、気管支肺胞洗浄液、*Mycoplasma bovis*、*Pasteurella multocida*、肺炎。

-----日獣会誌 73, 31~36 (2020)

子牛の肺炎は、その成長に多大な影響を及ぼすばかりかその生命をも奪いかねない重要な疾患であり、経済的な損失もきわめて大きい [1, 2]。牛肺炎の抗菌薬療法においては、臨床経験に基づく知見や鼻咽頭スワブ (Nasopharyngeal swab : Swab) を用いた細菌分離検査結果により得られた情報により抗菌薬が選択されることが多い [3-6]。しかし、健常子牛の気道においても、鼻腔領域、咽頭領域及び気管には、さまざまな細菌が恒常的に存在することは一般的に知られていることから [3-9]、肺炎罹患牛の Swab を用いた細菌分離検査により分離された細菌が、肺炎罹患領域の情報を正確に反映しているかは疑問である。

一方、気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage : BAL) は、気管支肺胞領域のさまざまな情報をダイレクトに得る手法として人医療、馬医療及び小動物医療にお

いて実施されている。特に馬医療においては、肺炎原因菌の特定に留まらず肺炎の治療を目的とした BAL が臨床応用され、良好な臨床成績をあげている [10, 11]。しかし、馬以外の大動物の BAL に関する報告はきわめて少ないため [12, 13]、同一牛の鼻咽頭領域内及び気管支肺胞領域内からの細菌分離に関する情報はほとんど見当たらない。

本研究では、南九州において臨床的に肺炎と診断され、初診から 1 カ月以上の肺炎に対する治療によっても良化しなかった黒毛和種牛 (重症慢性肺炎) に対して Swab の採取とともに、気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid : BALF) を採取し、肺炎に関連する細菌の分離とともに、その薬剤感受性を明らかにすることを目的とした。

† 連絡責任者：帆保誠二 (鹿児島大学共同獣医学部獣医学科臨床獣医学講座)

〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24 ☎・FAX 099-285-3538 E-mail : k2088185@kadai.jp

材料及び方法

本研究は、鹿児島大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

供試牛及び検査：南九州（鹿児島県、宮崎県、熊本県）において、臨床経験が豊富な獣医師によりおもに臨床症状及び身体検査から肺炎と診断され、家畜共済の診療指針にのっとった治療を初診時から1カ月間以上実施しても終診に至らなかった黒毛和種牛50頭（重症慢性肺炎：雄あるいは去勢29頭、雌21頭：月齢 5.3 ± 2.2 （平均値 \pm 標準偏差）カ月：範囲3～13カ月）を供試し、身体検査、血液検査、Swab及びBALFの細菌学的検査を実施した。

身体検査：身体検査では、聴診による心拍数及び呼吸数の計数、水銀体温計による直腸温測定及び胸部聴診を実施した。

血液検査：血液は、供試子牛の頸静脈から真空採血管（バノプロジェクト、テルモ株、東京）を用いて採取した。得られた血液は血液自動分析装置（pocH[®]-100iV Diff. シメックス株、兵庫）により白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、ヘモグロビン濃度（Hgb）及びヘマトクリット値（Ht）を測定した。

Swab 及び BALF の採材：消毒用エタノールに浸漬した綿花を用いて鼻孔周辺を清拭した後、滅菌綿棒（メンテップ病院用綿棒 1P3005、日本綿棒株、東京）を常法に従い鼻咽頭部まで挿入し、スワブすることにより Swab を得た。続いて、内視鏡を用いた BALF の採取を既報 [14] を参考に実施した。すなわち、非鎮静下で内視鏡（OLYMPUS VQ TYPE 5112B、オリンパス株、東京）を鼻孔から挿入し、鼻腔及び咽喉頭部を観察後、リドカイン（キシロカイン注射液 2%、アストラゼネカ株、大阪）による気道粘膜の表面麻酔を実施しながら気管支へと内視鏡を進めた。その後、内視鏡を滲出液が観察される肺葉（おもに中葉あるいは副葉。一部症例で左前葉前部あるいは左前葉後部）へとつながる気管支へ進め、直径約 5.5mm の気管支に楔入した。楔入部位の脱気後、37℃ に加温した滅菌生理食塩水 30ml を気管支鏡の鉗子孔から注入し、即座に回収した。同操作を計 2 回実施し、混和したものを BALF 検体とした。得られた検体は冷蔵状態で検査室へ搬送し、検体採取後 4 時間以内に細菌分離検査に供した。

Swab 及び BALF の細菌学的検査：Swab は 300 μ l の滅菌生理食塩水に懸濁後、細菌分離検査に供した。

細菌分離検査は、5%馬脱繊維素血液含有コロンビア寒天培地（BA 培地；BBL Columbia Agar Base、日本ベクトン・ディッキンソン株、東京）及びマッコンキー寒天培地（MAC 培地；MacConkey 寒天培地「ニッスイ」、日水製薬株、東京）を用いて常法 [15] により実施

した。Swab 検体及び BALF 検体を各培地に定量（1 培地当たり 50 μ l 及び 0.5 μ l）を接種した。接種された BA 培地は 2 種類の培養法（37℃、5% CO₂ 条件下及び 37℃、嫌気条件下）で、MAC 培地は 1 種類の培養法（37℃、好気条件下）で 24 時間培養された。培養後の BA 培地から細菌を分離し、純培養後にグラム染色検査及び細菌同定検査（飛行時間型質量分析計：MALDI-TOF/MS；autoflex speed TOF/TOF-KG、Bruker Daltonics, U.S.A.）を実施した。

マイコプラズマ分離検査は、細菌分離検査と同様の検体をマイコプラズマ分離用寒天培地（マイコプラズマ（NK）寒天生培地、関東化学株、東京）に塗布し、同培地の操作手順通りに培養（直接培養）するとともに、マイコプラズマ増菌培地（マイコプラズマ（NK）培地、関東化学株、東京）に接種し、同増菌培地の操作手順通りに培養（増菌培養）した。増菌培養液は、その後、1 白金耳をマイコプラズマ分離用寒天培地に塗布後、同培地の操作手順通りに培養し、実体顕微鏡で観察した。培地上の目玉状のコロニーについては、TOF-MS を用いて同定した。なお本研究においては、主要肺炎原因菌である *Mannheimia haemolytica*、*Pasteurella multocida*、*Histophilus somni* 及び *Mycoplasma* 属を分離・同定対象細菌とし、それ以外の細菌はその他細菌とした。

薬剤感受性試験：BALF から分離された *P. multocida* 22 株及び *M. bovis* 25 株について、既報 [3, 6] に準じた微量液体希釈法あるいは寒天平板培地希釈法により実施した。すなわち、*P. multocida* は 5% 馬脱繊維素血液含有ミューラーヒントン寒天平板希釈法（抗菌薬濃度：8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 μ g/ml）により、*M. bovis* については、微量液体希釈法（抗菌薬濃度：16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 μ g/ml）により、各細菌の発育を 50% あるいは 90% 阻止する最小発育阻止濃度（それぞれ MIC₅₀、MIC₉₀）を検査した。供試薬剤は、アモキシシリン（AMPC）、アンピシリン（ABPC）、チアンフェニコール（TP）、フロルフェニコール（FF）、タイロシン（TYL）、チルミコシン（TIL）、カナマイシン（KM）、オキシテトラサイクリン（OTC）、クロルテトラサイクリン（CTC）、エンロフロキサシン（ERFX）、マルボフロキサシン（MRFX）及びオルビフロキサシン（ORFX）の 12 薬剤とした。

さらに、Swab から分離された細菌については、純培養され、かつ同一供試牛の BALF でも同種の細菌が分離された *P. multocida* 14 株（供試牛 No. 5, 10, 16, 17, 18, 22, 24, 25, 30, 35, 38, 45, 47 及び 48）及び *M. bovis* 12 株（供試牛 No. 7, 11, 13, 14, 16, 17, 18, 20, 27, 32, 38 及び 48）について、同様に薬剤感受性試験を実施した。

成績の表記：データの一部は、平均値±標準偏差で示した。

成 績

身体検査：供試牛全頭で、心拍数、呼吸数及び体温の上昇が認められ、胸部聴診により異常呼吸音が聴取されたことから肺炎の病態が継続しているものと診断した(表1)。

血液検査：血液検査では、WBCが高値(12,200±4,804/μl)を示したが、RBC、Hgb及びHtはおおむね健常牛の値に近似していた(表1)。

細菌学的検査：Swab及びBALFの細菌学的検査では、主要肺炎原因菌をはじめ多数の細菌が分離された(表2)。Swab及びBALFからの主要肺炎原因菌の分離割合は*P. multocida*がSwab 50検体中25検体(50.0%)及びBALF 50検体中22検体(44.0%)から、*M. haemolytica*がBALF 50検体中1検体(2.0%)から分離された(表2)。また、*M. bovis*はSwab 50検体中16検体(32.0%)及びBALF 50検体中50検体(100%)から分離された。Swabからは*M. haemolytica*及び*H. somni*の分離はなかったが、その他細菌も一部分離された。一方、BALFからは、*H. somni*の分離及びその他細菌の分離はなかった(表2)。

同一牛においてSwab及びBALFの両検体から同一細菌種が分離された割合(分離陽性一致率)は、両検体のいずれか、あるいは両検体ともに分離陽性であった検

体のうち*P. multocida*では42.4%(33頭中14頭)、*M. haemolytica* 0.0%(1頭中0頭)、*M. bovis*では32.0%(50頭中16頭)であった(表2)。

薬剤感受性試験：BALFから分離された*P. multocida*及び*M. bovis*の薬剤感受性試験結果からは、同2菌種ともにMIC₉₀はフルオロキノロン系抗菌薬(エンフロロキサシン、マルボフロキサシン及びオルビフロキサシン)では1μg/ml以下であったが、他の抗菌薬では比較的高かった(表3)。

一方、同一供試牛のSwab及びBALFから分離された細菌の薬剤感受性は、採材部位により異なっていた。すなわち、Swabから分離された*P. multocida*及び*M. bovis*のMICはフルオロキノロン系抗菌薬を含めた供試抗菌薬全てにおいて高値であったが、同一供試牛の

表1 供試肺炎罹患牛の身体検査及び末梢血液検査結果

項目	単 位	結 果	
		平均値±標準偏差	範 囲 (最小値～最大値)
心拍数	回/分	82±7	70～90
呼吸数	回/分	81±8	60～90
直腸温	℃	39.5±0.3	38.9～40.0
白血球数	/μl	12,200±4,804	6,900～24,000
赤血球数	×10 ³ /μl	1,221±171	835～1,461
ヘモグロビン濃度	g/dl	12.8±2.1	8.5～16.4
ヘマトクリット値	%	42.7±7.9	28.6～53.5

表2 供試肺炎罹患牛50頭の鼻咽頭スワブ(Swab)及び気管支肺胞洗浄液(BALF)からの主要肺炎原因菌の分離結果

供試牛 番号	<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Mycoplasma bovis</i>		供試牛 番号	<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Mycoplasma bovis</i>		供試牛 番号	<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Mycoplasma bovis</i>	
	Swab	BALF	Swab	BALF		Swab	BALF	Swab	BALF		Swab	BALF	Swab	BALF
1	-	-	-	+	21	+	-	-	+	41	-	-	-	+
2	-	-	-	+	22	+	+	-	+	42	-	-	+	+
3	-	+	-	+	23	+	-	-	+	43	-	-	-	+
4	-	-	-	+	24	+	+	-	+	44	+	-	-	+
5	+	+	-	+	25	+	+	-	+	45	+	+	-	+
6	-	-	-	+	26	-	-	-	+	46	+	-	-	+
7	+	-	+	+	27	-	-	+	+	47	+	+	-	+
8	-	+	-	+	28	-	-	-	+	48	+	+	+	+
9	-	+	-	+	29	+	-	-	+	49	+	-	+	+
10	+	+	-	+	30	+	+	-	+	50	+	-	+	+
11	-	+	+	+	31	-	-	-	+	陽性分 離率 (%)	50.0	44.0	32.0	100.0
12	-	+	-	+	32	+	-	+	+					
13	-	-	+	+	33	-	+	-	+					
14	-	-	+	+	34	-	+	-	+					
15	-	-	-	+	35	+	+	-	+					
16	+	+	+	+	36	+	-	-	+					
17	+	+	+	+	37	+	-	-	+					
18	+	+	+	+	38	+	+	+	+					
19	-	-	-	+	39	-	+	+	+					
20	-	-	+	+	40	-	-	-	+					

＋：分離陽性、－：分離陰性
その他、*M. haemolytica*はBALF 50検体中1検体(No. 9; 2.0%)から分離されたが、Swabからは分離されなかった。
また、*H. somni*はBALF及びSwabからの分離はなかった。

重症慢性肺炎罹患牛の気管支肺胞洗浄液からの細菌分離

表3 気管支肺胞洗浄液から分離された *Pasteurella multocida* 及び *Mycoplasma bovis* の薬剤感受性試験結果

抗菌薬名	略号	<i>Pasteurella multocida</i> (22株)			<i>Mycoplasma bovis</i> (25株)		
		範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
アモキシシリン	AMPC	≦ 0.25 ~ >8	>8	>8	16 ~ >16	>16	>16
アンピシリン	ABPC	≦ 0.25 ~ >8	0.5	8	16 ~ >16	>16	>16
チアンフェニコール	TP	≦ 0.25 ~ >8	2	>8	1 ~ >16	4	16
フロルフェニコール	FF	≦ 0.25 ~ >8	0.5	>8	0.25 ~ >16	4	8
タイロシン	TYL	8 ~ >8	>8	>8	0.125 ~ >16	8	>16
チルミコシン	TIL	≦ 0.25 ~ >8	4	>8	4 ~ >16	>16	>16
カナマイシン	KM	4 ~ >8	>8	>8	0.125 ~ >16	4	16
オキシテトラサイクリン	OTC	4 ~ >8	>8	>8	0.5 ~ >16	>16	>16
クロルテトラサイクリン	CTC	1 ~ >8	>8	>8	0.25 ~ >16	8	>16
エンロフロキサシン	ERFX	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	≦ 0.125 ~ 2	0.5	1
マルボフロキサシン	MRFX	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	≦ 0.125 ~ 2	0.5	1
オルビフロキサシン	OBFX	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	≦ 0.125 ~ 2	0.5	1

単位: $\mu\text{g/ml}$

表4 同一供試牛の鼻咽頭スワブ (Swab) 及び気管支肺胞洗浄液 (BALF) から分離された *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* の最小発育阻止濃度 (MIC)

抗菌薬	略語	<i>Pasteurella multocida</i> (14頭)						<i>Mycoplasma bovis</i> (12頭)					
		Swab			BALF			Swab			BALF		
		範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
アモキシシリン	AMPC	1 ~ >8	>8	>8	≦ 0.25 ~ >8	>8	>8	16 ~ >16	>16	>16	16 ~ >16	>16	>16
アンピシリン	ABPC	1 ~ >8	8	>8	≦ 0.25 ~ >8	0.5	4	16 ~ >16	>16	>16	>16	>16	>16
チアンフェニコール	TP	2 ~ >8	8	>8	0.5 ~ >8	2	>8	2 ~ >16	8	16	1 ~ 16	4	16
フロルフェニコール	FF	2 ~ >8	4	8	≦ 0.25 ~ >8	0.5	>8	2 ~ >16	4	16	0.5 ~ 8	2	8
タイロシン	TYL	8 ~ >8	>8	>8	8 ~ >8	>8	>8	8 ~ 16	16	16	1 ~ 8	8	8
チルミコシン	TIL	8 ~ >8	>8	>8	0.5 ~ >8	4	>8	8 ~ >16	>16	>16	4 ~ >16	>16	>16
カナマイシン	KM	8 ~ >8	>8	>8	8 ~ >8	>8	>8	8 ~ >16	>16	>16	1 ~ >16	4	16
オキシテトラサイクリン	OTC	2 ~ >8	8	>8	4 ~ >8	>8	>8	2 ~ >16	8	16	0.5 ~ >16	4	16
クロルテトラサイクリン	CTC	4 ~ >8	8	>8	2 ~ >8	>8	>8	4 ~ 16	8	16	0.25 ~ 16	8	16
エンロフロキサシン	ERFX	2 ~ >8	8	>8	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	4 ~ 16	8	8	≦ 0.125 ~ 1	0.25	0.5
マルボフロキサシン	MRFX	2 ~ >8	8	>8	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	8 ~ 16	16	16	≦ 0.125 ~ 1	0.5	1
オルビフロキサシン	OBFX	2 ~ >8	8	>8	≦ 0.25 ~ 1	0.5	1	8 ~ >16	16	>16	≦ 0.125 ~ 1	0.5	1

単位: $\mu\text{g/ml}$

BALF から分離された同2菌種ともに、フルオロキノロン系抗菌薬 (エンロフロキサシン、マルボフロキサシン及びオルビフロキサシン) の MIC₉₀ は $1\mu\text{g/ml}$ 以下であった (表4)。

考 察

従来、肺炎原因菌の分離は、おもに鼻汁や Swab の細菌学的検索により行われてきた [3-9] が、鼻腔や鼻咽頭には健常時でも細菌が存在することから、分離されてきた細菌が肺炎原因菌であるとは限らない。また、気管カテーテルを用いた簡易な BAL から得られた検体を解析した報告 [8, 13] もあるが、盲目的にカテーテルを挿入していることから、採材部位が特定されないため、肺炎に感染している細菌が分離されているかは不明である。いずれにしても、重症慢性肺炎罹患牛の BALF を

内視鏡下で採取し、細菌学的に解析した報告は見当たらない。そこで本研究では、南九州で飼養される重症慢性肺炎罹患牛の BALF を Swab とともに検査し、肺炎に感染する細菌及びその薬剤感受性を調査した。

子牛の肺炎の多くは、ウイルス、*P. multocida*, *M. haemolytica*, *H. somni* 及び *M. bovis* が複雑に絡み合っており発症すると報告されている [1, 4, 8, 9]。しかし、本研究における BALF からの細菌分離は、*P. multocida* と *M. bovis* が主体であり、*M. haemolytica* 及び *H. somni* はほとんど分離されなかった。このことは、供試した重症慢性肺炎罹患牛が1カ月以上の長期間にわたって、さまざまな抗菌薬で治療されてきたことや採材した地域が関連するかもしれないが、詳細は明らかにすることはできなかった。

薬剤感受性試験の結果からは、Swab から分離された

P. multocida 及び *M. bovis* の MIC は、フルオロキノロン系抗菌薬を含む多くの抗菌薬で高値であったが、BALF から分離された同 2 菌種の MIC はフルオロキノロン系抗菌薬においては低値であった。このことは、同一供試牛から分離された同一菌種の細菌であっても、薬剤感受性が異なる可能性があることから、重症慢性肺炎罹患牛において Swab による肺炎原因菌の推定には慎重を要すると思われた。本研究では分離細菌株の遺伝学的な検査は実施していないため、採材部位による薬剤感受性の相違については、今後明らかにする必要があると考えられた。

引用文献

- [1] Snodder GD, Van Vleck LD, Cundiff LV, Bennett GL : Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors, *J Anim Sci*, 84, 1999-2008 (2006)
- [2] Griffin D : Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle, *Vet Clin N Am-Food A*, 13, 367-377 (1997)
- [3] 加藤敏英, 遠藤 洋, 酒井淳一 : 健康肥育牛の鼻汁から分離された *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* 及び *Ureaplasma diversum* の薬剤感受性, *日獣会誌*, 66, 852-858 (2013)
- [4] Portis E, Lindeman C, Johansen L, Stoltman G : A ten-year (2000-2009) study of antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex - *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* - in the United States and Canada, *J Vet Diagn Invest*, 24, 932-944 (2012)
- [5] 小池新平, 井上恭一, 米山州二, 市川 優, 田島和彦 : 栃木県で過去 16 年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性調査, *日獣会誌*, 62, 533-537 (2009)
- [6] 加藤敏英, 小屋正人, 渡辺栄次, 酒井淳一, 小形芳美, 曳沼 徹 : 肺炎罹患牛の鼻汁由来細菌及びマイコプラズマの薬剤感受性, *日獣会誌*, 49, 81-84 (1996)
- [7] 加藤敏英, 山本高根, 小形芳美, 漆山芳郎, 荻野祥樹, 齋藤博水 : 薬剤感受性に基づいた牛呼吸器感染症治療プログラムの臨床効果, *日獣会誌*, 61, 294-298 (2008)
- [8] DeRosa DC, Mechor GD, Staats JJ, Chengappa MM, Shryock TR : Comparison of *Pasteurella* spp. simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease, *J Clin Microbiol*, 38, 327-332 (2000)
- [9] Maunsell FP, Woolums AR, Francoz D, Rosenbusch RF, Step DL, Wilson DJ, Janzen ED : *Mycoplasma bovis* infections in cattle, *J Vet Intern Med*, 25, 772-783 (2011)
- [10] Ito S, Hobo S, Eto D, Sato H : Bronchoalveolar lavage for the diagnosis and treatment of pneumonia associated with transport in Thoroughbred racehorses, *J Vet Med Sci*, 63, 1263-1269 (2001)
- [11] Hobo S, Yoshihara T, Oikawa M, Jones JH : Surfactant proteins in bronchoalveolar lavage fluid of horses: assay technique and changes following road transport, *Vet Rec*, 148, 74-80 (2001)
- [12] Allen JW, Viel L, Bateman KG, Rosendal S, Shewen PE, Physick-Sheard P : The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures, *Can J Vet Res*, 55, 341-346 (1991)
- [13] Angen O, Thomse J, Larsen LE, Larsen J, Kokotovic B, Heegaard PM, Enemark JM : Respiratory disease in calves: microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response, *Vet Microbiol*, 137, 165-171 (2009)
- [14] Hobo S, Oikawa M, Kuwano A, Yoshida K, Yoshihara T : Effect of transportation on the composition of bronchoalveolar lavage fluid obtained from horses, *Am J Vet Res*, 58, 531-534 (1997)
- [15] 牧野壮一, 楠本晃子 : 固形培地とコロニー観察, *獣医微生物学実験マニュアル*, 原澤 亮, 本多英一監修, 28-35, チクサン出版社, 東京 (2009)

Bacterial Isolation and Antimicrobial Susceptibility from Bronchoalveolar Lavage Fluids of Calves with Severe Pneumonia

Tetsuro KURAMAE^{1), 2)}, Shingo ISHIKAWA^{2), 3)}, Jun HAYASHI^{2), 4)}, Keita TSUMAGARI^{2), 5)},
Konosuke OTOMARU^{2), 3)} and Seiji HOB0^{2), 3)} †

- 1) *Kuramae Animal Clinic, 3209-2 Koba, Yusui, Aira-gun, 899-6201, Japan*
- 2) *United Graduate School of Veterinary Science, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753-8511, Japan*
- 3) *Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan*
- 4) *Miyazaki Agricultural Mutual Aid Association, 280 Takasu, Miyazaki, 880-0852, Japan*
- 5) *Soo Agricultural Mutual Aid Association, 2253 Tsukino, Oosumi-cho, Soo-shi, 899-8212, Japan*

SUMMARY

In this study, nasopharyngeal swabs (Swab) and bronchoalveolar lavage fluids (BALF) were collected from 50 Japanese black cattle diagnosed with severe chronic pneumonia, and identification of the causative bacteria of pneumonia and its antibiotic susceptibilities were investigated. *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella multocida* were mainly isolated from Swab and BALF. However, the rates at which the same bacterial species were isolated from both specimens in the same cow were relatively low. In addition, *M. bovis* and *P. multocida* isolated from BALF were mainly sensitive to fluoroquinolones, but the antibiotic susceptibilities of the same two species isolated from Swab were low. From the above, *M. bovis* and *P. multocida* were mainly isolated from the nasopharyngeal area and bronchoalveolar area of cattle with severe chronic pneumonia, but the antibiotic susceptibility differs depending on the collection site, even if the same bacterial species is a possibility. It seems necessary to be careful about estimating the pneumonia causing bacteria by Swab in calves with severe pneumonia. — Key words : antimicrobial susceptibility, bronchoalveolar lavage fluid, *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, pneumonia.

† Correspondence to : Seiji HOB0 (Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University)
1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan
TEL · FAX 099-285-3538 E-mail : k2088185@kadai.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 73, 31 ~ 36 (2020)