家畜の繁殖障碍の治療及び豫防法に關する研究

I. 健康牛の膣及び子宮の正常細菌叢について

越智勇一 尾形 學 小西信一郎 吉田英一

(東京大學農學部獸醫學科細菌學教室)

(昭和 29 年 4 月 26 日受付)

I. 緒 言

家畜特に牛の繁殖障碍の原因としては、營養不良、内分泌機能障碍並びに傳染性疾患等が挙げられるが、その内、ブルセラ、トリコモナス、ビブリオ等の特殊傳染性疾患については古くから精細に研究せられ、その対策もたてられている 併しながら、子宮内膜炎、膣炎等の非傳染性細菌性疾患（普通疾患）については、未だ充分な研究がなく、従つてその成因、豫防、治療等についても未だ解決せられていないようである

而して營養不良、内分泌機能障碍並びに特殊傳染性疾患による繁殖障碍が、近時適切な対策によつて減少すると共に、之に反比例して之等の普通疾患による繁殖障碍は年と共に増加の傾向にあつて、今や各國畜産界に於ける重要問題の一つとして、識者の注目するところとなりつゝある

今之を文献に徴するに、古く BEAVER (1922)⁽¹⁾ は不妊牛の膣の細菌検査によつて、*Staphylococcus*, *B. subtilis*, *Non-haemolytic streptococcus*, *Alpha-Streptococcus*, *Cory. pyogenes* 等を分離し、その内、後二者のみは病原性を有するとし、HATCH 等 (1949)⁽²⁾ も、同様、不妊牛の膣並びに子宮頸について検索し、グラム陰性桿菌、グラム陽性桿菌、グラム陽性短桿菌（大部分が *Corynebacterium*）、グラム陽性球菌等を分離したが、健康牛の子宮頸は無菌であると云われているところから、之等の細菌は、不妊の原因となつていふように思われると報告した SYKORA (1932) は健康並に不妊牛の膣の細菌叢について比較検討した結果、*Cory. pyogenes* のみは不妊に關係ありと記載し、WEITZ (1947)⁽³⁾ も亦健康牛 100 頭、並びに臨床的に子宮内膜炎が認められた 180 頭の不妊牛について検査し、*Cory. pyogenes* のみは不妊の原因となるが、他の種々な細菌は直接之に關係がないと報告した

然しながら、他方 *Cory. pyogenes* は越智 (1936)⁽⁴⁾、BOSWORTH, FRANCIS (1941)⁽⁵⁾、清水等 (1953)⁽⁶⁾ 等によつて、單に不妊牛のみならず、健康牛の膣からも分離せられている

以上は膣における細菌叢についての報告であるが、子宮における細菌叢については、從來あまり研究なく、僅かに NOCARD, FITCH 等によつて、子宮は無菌であると記載せられて以來、一般に之が信ぜられているようである 然るに不妊牛の子宮については、LINDLEY 等 (1952)⁽⁷⁾ は、菌種未決定のグラム陽性無芽胞桿菌、*Micrococcus*, *Neisseria*,

Corynebacterium 其の他の菌の存在を認め、その内 *Neisseria* は特に不妊に關係があると述べた DeCAMP (1935)⁽⁸⁾ によると、子宮内膜炎は、*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Cory. pyogenes*, *Esch. coli* 等、廣く自然界に存在する菌によつて起るとせられ、EASELY 等 (1951)⁽⁹⁾ は、反復種付け牛の 80% に子宮感染がみられるが、その大部分は *Micrococcus pyogenes* (*Staphylococcus*) によると云い、又、ROACH⁽¹⁰⁾, AZIZ-UD-DINE, SKAARUP THYGESEN 等は *Cory. pyogenes* による子宮内膜炎について報告している

以上の如く、健康並に不妊牛の膣及び子宮における細菌検索、更に子宮内膜炎の病原等について、従來多少の研究はあるが、その成績は必ずしも一致せず、果して何れが眞なりや明かでない

そこで吾々は、現在わが國で重要視せられている、繁殖障碍の一原因である生殖器における普通疾患の原因を確め、之が治療及び豫防法について研究するに當り、まず基礎的實驗として、健康牛の膣及び子宮について、之が正常細菌叢を検索したところ、概ね次のような成績を得たので、こゝに之を報告する

因に次いで吾々は、不妊牛における兩部位の細菌叢を検索し、之が健康牛の夫との比較に於て、その質的、量的變化を追求すると共に、他方動物體側の諸因子（特に性周期の關係等）を検討することによつて、繁殖障碍の一因をなすこれら普通疾患の原因を究明するつもりで研究を進めている

II. 検査材料及び方法

この試験は 1951 年 7 月より 9 月に至る 2 ヶ月間、東京都芝浦屠場において屠殺せられたものゝ内、成牝牛 98 頭（その大部分は黒毛及び褐毛和種、一部はホルスタイン種である）に就て行われたのであるが、それらの經産回数、既往症、飼育地等は不明である

検査材料は、膣及び子宮であるが、それらは解體直後、連續したまゝ取り出し、肉眼的並びに觸診によつて、正常と認められたもののみを選定した

検査方法は、これらの表面をアルコール綿を以て充分清拭し、消毒メスを以て、膣は子宮頸下約 5 cm の部位、子宮は子宮角の部分を開き、Swab method により、内壁をなるべく廣い範圍にわたつて拭取り、これを滅菌試験管に収めて實驗室に持ち歸り、概ね 2~3 時間後培養した 培養基は普通寒天及び血液寒天（馬脱纖血液 8~10% 加）平板を用い、37°C に 24~48 時間培養した 従つて、これら以外の培地でなければ發育しないもの、並びに嫌氣性菌はこの試験からは除外せられた

菌種の同定は法の如くに行い、分類は原則として BERGEY によつた

III. 検査成績

その成績は Table 1 に示す如く、検査總頭數 98 頭中、膣のみに菌が認められたもの 48 頭、膣並びに子宮共に認められたもの 23 頭、子宮のみに認められたもの 2 頭、兩

者共に認められなかつたもの 25 頭である 従つて腔においては 71 頭, 子宮においては 25 頭に菌が認められたのであるが, 今之を菌種並びに菌數別に整理してみると, Table 2 に示す通りである 即ち表に明かな如く, 腔及び子宮共に最も多く存在する菌

Table 1. Bacteriological Examination of the Vagina and Uterus of Healthy Cows

Total Number of Examined Cows	Vagina	Uterus	Number of Positive Cows
98	+	—	48
	+	+	23
	—	+	2
	—	—	25

N.B. + indicates positive bacterial flora.
— indicates sterile.

Table 2. Normal Bacterial Flora in Vagina and Uterus of Healthy Cows

Organisms	Vagina (71*)						Uterus (25*)					
	No. of Cases	No. of Colonies	1-10	11-100	101-300	301-1000	No. of Cases	No. of Colonies	1-10	11-100	101-300	301-1000
Micrococcaceae	64		28	28	5	3	24		8	12	3	1
Gram pos. non-spore bearing bacilli	39		29	7	1	2	14		4	4	1	0
Enterobacteriaceae	32		9	17	4	2	14		3	6	5	0
Gram neg. bacilli	26		10	13	2	1	9		5	2	1	1
Bacillaceae	17		12	5	0	0	4		0	3	1	0
Corynebacteriaceae	13		11	1	1	0	5		3	2	0	0
Lactobacteriaceae (Streptococcus)	12		7	5	0	0	1		1	0	0	0
Neisseriaceae	2		2	0	0	0	3		1	1	1	0
Pseudomonadaceae	1		1	0	0	0	0		0	0	0	0
Total	206		109	76	13	8	74		30	30	12	2

N.B. 71*, 25* indicates number of positive cases of 98 examined cows.

分で, 一菌種のみ純粹に存在するものは殆どなく, その菌數も Table 2 に示す如く, Swab method により集落數 300 個以下のものが大部分で, それ以上のものは極めて少なかつた

は, *Micrococcaceae* (大部分は *Micrococcus pyogenes* var. *albus*, *aureus*, *Micrococcus citreus* で, その他に少數の菌種未決定のグラム陰性, 陽性單球菌が含まれている) で, 以下菌種未決定のグラム陽性無芽胞桿菌, *Enterobacteriaceae* (大部分は *Esch. coli*, 一部は *Proteus*, その他菌種未決定のラクトース非分解菌 7 株を含んでいる), 菌種未決定のグラム陰性桿菌, *Bacillaceae*, *Corynebacteriaceae* (但し *Cory. pyogenes* を含まず), *Lactobacteriaceae* (但し *Streptococcus* のみを示す), *Neisseriaceae*, *Pseudomonadaceae* の順であり, この順序は腔と子宮において略同一傾向を示し決して腔と子宮の菌は無關係のものでなく, 子宮は腔の延長であるように思われた

次にこれら菌種の兩部位における存在狀態並びに菌數については通常 2~3 種混在するものが大部

IV. 考察並びに總括

家畜殊に牛の生殖器の正常細菌叢に関する研究は、かなり古くから行われてはいるが、その多くは不妊牛との關聯においてなされ眞に健康牛のみについての系統的研究は少く、擧げられている菌種も、研究者によつてかなりまちまちで、果して何れが正常細菌叢であるかについては餘り明かでない 然し一般的に云えば、健康牛の腔は必ずしも無菌ではなく、色々な菌が存在することは、DENZLER (1904), KUNST (1911), SYKORA (1932), SMITH 並びに SHERMAN (1939), WEITZ (1947), 越智 (1936), BOSWORTH, FRANCIS (1941), 清水等 (1953) 等によつて記載せられてゐる通りである 之に反し、子宮に於ては殆んど研究せられたものがないが、一般的には NOCARD, FITCH (1932)⁽¹²⁾ 以來無菌であると信ぜられてゐるようである

然るに、人については、DÖDERLEIN (1895) の報告以來、成人の腔には DÖDERLEIN 桿菌が常在し、之によつて腔の自淨作用が行われていることは周知の事實である 従つて、人においては本菌を一示標として、生殖器の正常と病的状態とを、ある程度區別しているが、家畜においては、このような區別は行われぬ 何故なれば、PASCH (1922)⁽¹³⁾ によると、元來、家畜の腔壁にはグリコーゲンがなく、又腔分泌液はアルカリ性である爲に、DÖDERLEIN 桿菌が生活し得ないからである

家畜の腔に本菌が存在するか否かについては、尙今後の研究に俟たなければならないが健康家畜の腔分泌液の反應が、中性若しくは弱アルカリ性であることは、RICHTER, REINHARDT (1920), WESTER (1921), KADEN (1921), HAMMOND (1927), ROARK 並びに HERMAN (1950)⁽¹⁴⁾ その他多くの研究者によつて確認せられたところであり、この點より考えても、家畜の腔における自淨作用は、本菌によつては行われぬであろうと推察せられる

然るに、家畜の腔は、人のそれに比して、體の構造上、又環境上甚だしく汚染され易いにも拘わらず、人におけるが如く、特殊の菌によつて自淨作用が行われぬとすれば、こゝに種々なる菌が存在するのは當然であろう

而してこのような場合、どれが常在菌で、どれが單に一過性の汚染菌であるかの區別は極めて困難であるが、之等は何れも廣い意味に於ては Normal flora であるが、このような意味に於ける Normal flora は、時と處によつて、かなり動搖すると思われる

從來、多くの研究者によつて、必ずしも一定した成績が得られないのはこれが爲であり、之は又一面から云えば、人における DÖDERLEIN 桿菌の如き、眞の意味における常在菌があつて、之によつて自淨作用が行われぬからであろう

吾々の實驗においても、總ての牛の腔に共通に見られる一定の菌は認められず、多くの材料において、數種の菌が混在するが、その數は左程多くはなく、しかも全然菌の認められないものもあつた

子宮も必ずしも無菌ではなく、約 25% においては有菌であつたが、その種類及び菌

數は、腔におけると同様で、子宮に常在するものでなく、腔からの侵入と考えられるものであつた

尙これらの成績は、一時に多數の動物について行つた個體別の成績であるが、假に同一個體に就て、長期に亘つて検査を行うならば、同一個體についても時期的に同様の成績が得られるものと思われる

果して然らば、牛の腔には、眞の意味における常在菌はなく、環境と状態によつて、外部から侵入したものゝ内、或種のもは一定期間生存し得て、之が Normal flora と認められるのであり、従つて時により、處により、又個體によつてかなりの相違が見られるものと考えられる

以上の成績を總括すれば概ね次の通りである

1. 健康成牛（屠殺材料）98 頭の腔並びに子宮の正常細菌叢検索の結果、腔のみに菌が認められたもの 48 頭（48%）、腔及び子宮共に菌の認められるもの 23 頭（23%）、子宮のみに存在するもの 2 頭（2%）、兩者共に認められないもの 25 頭（25%）であつた従つて腔に於ては 71%、子宮においては 25% に菌が存在した

2. 検出菌は 9 種に亘り、検出率は、腔並びに子宮において略々同一傾向を示し、之をその順序に挙げると、次の通りである

(1) *Micrococcaceae* (大部分は *Micrococcus pyogenes* var. *albus*, *aureus*, *Micrococcus citreus*, その他少數の菌種未決定のグラム陰性、陽性單球菌を含む)

(2) 菌種未決定のグラム陽性無芽胞桿菌

(3) *Enterobacteriaceae* (大部分は *Esch. coli*, その他少數の *Proteus*, 菌種未決定のラクトーズ非分解菌を含む)

(4) 菌種未決定グラム陰性桿菌

(5) *Bacillaceae*.

(6) *Corynebacteriaceae* (但し *Cory. pyogenes* を含まず)

(7) *Lactobacteriaceae*. (但し *Streptococcus* のみを示す)

(8) *Neisseriaceae*.

(9) *Pseudomonadaceae*.

3. これらの菌種の兩部位に於ける存在状態は、數種混在するものが多く、一菌種のみ純粹に存在するものは極めて少く、又その検出數は甚だ少く、Swab method による集落數は 1~10 個のものが約 50%、10~100 個のものの約 37% である

4. 腔並びに子宮共に菌の存在する場合、兩部位における菌數には、特別の傾向はみられないが、菌種については、腔に存在するいずれかの菌種が同時に子宮に存在することが多い

稿を終るに臨み、材料採取に便宜を與えられた、芝浦屠場 關技師並びに検査員各位に深甚なる謝意を表す

本研究は文部省科學研究費により行つた

文 献

- (1) BEAVER, D.C.: *Amer. Vet. J.*, **59**, 469 (1922)
- (2) HATCH, R.D., E.S. FEENSTRA & L.F. JENNING: *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, **114**, 131 (1949)
- (3) WEITZ, B.: *J. Comp. Path. & Therap.*, **57**, 191 (1947)
- (4) 越智・財前: 日本獣醫學雜誌, **15**, 30 (1936)
- (5) FRANCIS, J.: *Vet. J.*, **97**, 243 (1941)
- (6) 清水・中原: 第3回日本細菌學會關東支部例會報告
- (7) LINDLEY, D.C. & R.C. HATFIELD: *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, **120**, 12 (1952)
- (8) DE CAMP, C.E.: *Vet. Med.*, **30**, 38 (1935)
- (9) EASLEY, G.T., R.H. LEONARD & D.M. TROTTER: *North Amer. Vet.*, **32**, 258 (1951)
- (10) ROACH, R.W.: *Vet. Rec.*, **58**, 169 (1946)
- (11) SMITH, F.R. & S.M. SHERMAN: *J. Inf. Dis.*, **65**, 301 (1939)
- (12) FITCH, C.P. & L.M. BISHOP: *Cornell Vet.*, **22**, 225 (1932)
- (13) PASCH: *Arch. Hyg.*, **91**, 158 (1922)
- (14) ROARK, D.B. & H.A. HERMAN: *Missouri Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, N. 455 (1950)

STUDIES ON THE TREATMENT AND PREVENTION OF REPRODUCTIVE FAILURES IN LIVESTOCK.

I. BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF THE VAGINA AND UTERUS OF HEALTHY COWS.

Yuichi OCHI, Manabu OGATA, Shinichiro KONISHI
and Eiichi YOSHIDA

*(From the Department of Bacteriology, Division of Veterinary Science,
Faculty of Agriculture, Tokyo University)*

(Received for Publication April 26, 1954)

Bovine infertility is mostly attributed to nutritional deficiencies, endocrine disorders or certain contagious diseases. Among these causes of reproductive failures, certain contagious diseases such as bovine brucellosis, venereal trichomoniasis or vibriosis have been so well investigated that various kinds of therapeutic and prophylactic measures have already been taken, while non-contagious common diseases, including endometritis and vaginal catarrh, have not yet been well studied. But the significance of non-contagious diseases must be emphasized as they have been causing a great economic loss.

First of all, as one of the basic studies on those common diseases, investigations were made on the vaginal and uterine flora in 98 normal cattle, slaughtered at the Shibaura Slaughter House in Tokyo.

Most of these cattle were of either black or brown Japanese breeds.

The vagina and uterus, entirely in one piece, were removed immediately after slaughter. Upon confirmation of the absence of any pathological change, the internal walls of those organs were swabbed and cultures were made aerobically on both blood-agar and ordinary agar plate.

Out of the total 98 cases examined, those positive in the case of both vaginal and uterine swabs were 23, those positive in the case of the vaginal swab only, were 48, those positive in the case of the uterine swab only, were 2, while those negative in both cases were 25. Namely, cultures made with the vaginal swab were positive in 71 cases and those of the uterine swab were positive in 24 cases.

The families of those bacteria recovered are as follows and the frequency of their appearance is in the order listed :

- 1) Micrococcaceae (*Micrococcus pyogenes* var. *albus*, *aureus*, *Micrococcus citreus* and few other non-identified Gram-negative and Gram-positive cocci).....Vagina 90%, Uterus 96%.
- 2) Non-identified Gram-positive non-spore bearing bacillus.....Vagina 55%, Uterus 56%.
- 3) Enterobacteriaceae (*Esch. coli* and few other proteus, non-identified non-lactose fermenting organisms).....Vagina 45%. Uterus 56%.
- 4) Non-identified Gram-negative bacillus.....Vagina 37%. Uterus 36%.
- 5) Bacillaceae.....Vagina 24%. Uterus 16%.
- 6) Corynebacteriaceae (Not including *Cory. pyogenes*).....Vagina 18%, Uterus 20%.
- 7) Lactobacteriaceae (*Streptococcus*).....Vagina 17%, Uterus 0.4%.
- 8) Neisseriaceae.....Vagina 3%, Uterus 1%.
- 9) Pseudomonadaceae.....Vagina 1%, Uterus 0%.

Bacteria present in the vagina and the uterus of cattle are extremely small in number, then colonies formed being only 1 to 10 in 50% and 10 to 100 in 37% of the total positive cases when cultivation was done by the swab method.