

## CAR バチルス感染症

池 郁生

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室

### 要 約

CAR (カー) バチルスは、齧歯類の気道の線毛上皮細胞 (ciliated epithelial cell) に主に感染してコロニーを形成することから名付けられたグラム陰性のフィラメント状桿菌である。寒天培地を用いた培養ができず、16S rRNA 遺伝子配列から cytophaga-flovabacteria-bacteroides (CFB) 門に属することが分かっているが学名は未定である。菌の形態学的な特徴をもとにして、ウサギ、ブタ、ウシ、ヤギなどで CAR バチルス様細菌が報告されている。しかしながら齧歯類由来 CAR バチルスとその他の動物由来の本菌との関係は不明である。本菌は齧歯類で慢性呼吸器疾患の一因となり、宿主は特異抗体を産生するものの肺炎が治癒することはない。抗体の有無で本菌の感染を検査することができる。欧米およびオーストラリアの野生ラットは本菌を高率に保有する。ウサギでは呼吸器臨床症状はほとんど見られず、病理組織学的に軽微な炎症にとどまる。本菌は、まれではあるが、日米欧で主にラットの感染が報告されている。センダイウイルス感染症があまり見られなくなっている中、呼吸器疾患には肺マイコプラズマの他に本菌の感染もありうるということを記憶に留めておきたい。

### 1. 病原体：学名未定，通称 CAR bacillus

#### a. 形態

CAR (カー) バチルスは、齧歯類の気道の線毛上皮細胞 (ciliated epithelial cell) に主に感染してコロニーを形成するグラム陰性のフィラメント状桿菌である [15]。細胞の線毛と類似した形態から CAR バチルス (Cilia-Associated Respiratory bacillus) と命名された。気管支粘膜固有層から周囲組織への単核細胞 (リンパ球、プラズマ細胞、少数の単核球) 浸潤ならびに過形成を起こし、ラットやマウスの慢性呼吸器疾患 (chronic respiratory disease, CRD) の一因となる。菌の形態学的な特徴をもとにして、ウサギ [9, 10, 23]、ブタ [18]、ウシ [18]、ヤギ [12]、野生のシカやシャモア [7]、ネコ [35] でも本菌の存在が報告されている。シマイワガラガラヘビ (*Banded Rock Rattlesnake, Crotalus lepidus klauberi*) においても本菌類似の細菌が見出されたが [43]、これらの動物で報告された菌が同一の菌種あるいは同属の菌種であるかどうかは不明である (下記分類の項参照)。

本菌らしき感染症はまずオランダの実験用ラットコロニー [44]、次に米国の穀物倉庫の野生ラットで記述された [24]。後者の報告によると、それ以前に

もラットの慢性呼吸器マイコプラズマ症の教育用スライド (1958 年作製) や、市販のマウス、ウサギで本菌類似の細菌が見られたという。

本菌の感染部位の組織切片を Warthin-Starry 法などで銀染色すると菌塊を見いだすことができる。また同部位の走査電子顕微鏡写真には、上皮細胞の線毛と平行して、菌端が丸く、線毛とよく似た細長いフィラメント状の菌 (0.12–0.21  $\mu\text{m}$  × 4–12  $\mu\text{m}$ ) が観察される [42] が、菌と線毛の断面透過電子顕微鏡写真を見ると、線毛に 9 対の微細管が確認されるのに対し、菌では中心に電子密度のやや高い (電子顕微鏡で少し暗く見える) 領域とその周囲を 3 層の膜が囲んだ構造を示す。なお、本菌には鞭毛や線毛などの特別な外部構造は認められていない。

本菌分離株は滑走運動 (gliding motility) を示す。電子顕微鏡の観察から、本菌は鞭毛や線毛などの既知の運動機構を持たないことがわかっている。本菌の滑走運動機構は不明であるが、同様に滑走運動する *Flavobacterium johnsoniae* (cytophaga-flovabacteria-bacteroides (CFB) 門, Bacteroides 門ともいう) の研究では、菌体表面の adhesin タンパク質が膜上を動くことによって付着面上を運動するという [31]。CAR バチルスにも同様の機構があるか興味深い。

## b. 分類

CAR バチルスは、寒天培地を用いた分離培養が困難であるため、上記の形態学的な特徴、分離株の滑走運動、抗血清との反応性、実験感染などによって報告されてきた。学名は付けられていない。

抗血清を用いた方法、感染実験による病態発症様式、16S rRNA 遺伝子の相同性などから、CAR バチルスは齧歯類型（ラット・マウス由来株）、ウサギ型（ウサギ由来株）、ブタ型（ブタ・ウシ・ヤギ由来株）、その他（ネコ・ガラガラヘビ由来型）に分けられよう。

16S rRNA 遺伝子配列の解析によると、齧歯類型の CAR バチルスは *Flavobacterium Flexibacter* 属 (CFB 門) に属する [36]。一方、ウサギ分離株 (B6 株) の 16S rRNA 遺伝子配列を解析すると、齧歯類由来株の 16S rRNA 遺伝子配列との相同性は 50% 以下で、むしろ *Helicobacter* spp. (Proteobacteria 門) との関連性が非常に高かった [10]。しかしその後、他のウサギ由来株の 16S rRNA 遺伝子配列を調べたところ、ラット分離株との相同性は低いものの *Flavobacterium* と関連していたという [37]。一方、著者らが Genbank 等に登録されている CAR バチルス 16S rRNA 遺伝子配列を用いて BLASTn 解析を行なったところ、ブタ由来株およびウシ由来株は CAR バチルスのラット由来株と最も近かった（ラット由来 SMR 株と他のマウス・ラット由来株間の相同性は 97~100%、ブタ・ウシ由来株と SMR 株間の相同性は 87~88%）。各動物由来株はマイコプラズマに汚染されていることが多く、CAR バチルスの純培養に苦労している [32, 37]。最新の技術を用いた各動物由来株の 16S rRNA 遺伝子解析による再評価を含め、学名制定など本菌の基本情報の整理が必要である。

## c. 培養

CAR バチルスは寒天培地による分離培養ができない。そのため齧歯類由来株の分離・増殖では、動物への実験感染による継代、孵化鶏卵漿尿膜腔への注入培養や、3T3 細胞などの細胞に感染させて共培養する [15, 40] などの工夫がなされた。ブタ由来株およびウシ由来株では、両動物の気管拭い液をラット小腸上皮細胞株 IEC-18 に接種した共培養法で分離された [32]。混入しているマイコプラズマの除去には限界希釈法が用いられた [32]。

## d. 株

ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ウシから分離された株の報告がある。NIH 株 [36]、SMR 株 [26]、CBM 株 [39] などのラット・マウス由来株、B6 株 [10] などのウサギ由来株、95-15405 株 [32] などのブ

タ由来株、243-54 株 [32] などのウシ由来株が報告されている。これらの分離株はいまのところ微生物株保存機関に寄託されていない（SMR 株は理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室 (JCM) 寄託済み。近日公開予定）。一部については上記のように 16S rRNA 遺伝子配列が決定され、13 株の塩基配列情報は Genbank 等の公的データベースに収録されている。なおこれら分離株を検査や実験に用いる際には、同時に感染した病原体が存在していることがあるので混入病原体の除去とその確認が必要である [32, 37]。ヤギ、シカ、野生のシカやシャモア、ネコ、ガラガラヘビからの菌株分離の報告はない。

菌株は -80℃ で保存可能である [15, 36, 40]。

## 2. 感染様式

### a. 感受性動物種

実験動物における CAR バチルスの自然感染はラット、マウス、ウサギ、ブタに見られるが、問題となるのはラットである [2]。ラットでは F344、LEW および SD の各系統間で感受性に差がないが、病原性には株間で差があると報告されている [37]。

ラット由来 NIH 株の BALB/c と C57BL/6 マウスへの実験感染によると、両系統間で病原性に差が生じ (BALB/c の方が重症になる)、BALB/c では抗体産生が活発なうえ、サイトカイン産生の混乱が見られたのに対し、C57BL/6 は CAR バチルス感染に抵抗性であった [21]。マウス系統間の CAR バチルス感受性に関する遺伝子の報告はない。

### b. 病原性

本菌はラット、マウスに慢性呼吸器疾患を起こす。本菌の単独感染の報告 [30] はあるが、センダイウイルスやマイコプラズマが同時に検出されることが多い。本菌と肺マイコプラズマ (*M.pulmonis*) の混合感染は各々の単独感染より呼吸器症状が重くなる [11]。

ウサギでは呼吸器臨床症状はほとんど見られない。組織病理学的には、菌が付着している気管の線毛上皮の肥厚、線毛消失、粘膜固有層への軽微な炎症細胞の浸潤、近傍のリンパ組織の肥大が見られる [8, 17, 23]。

### c. 地理分布

日本、ヨーロッパ、北アメリカ [1]、オーストラリア [13] の実験用ラット・マウスコロニーで CAR バチルスの存在が報告されている。

#### d. 伝播経路

経鼻による直接接触感染で伝播するとされる [1, 2, 17, 42]。

本菌は野生のラット（ドブネズミ）で高率に感染している。米国ボルチモア近郊都市部のドブネズミの 52.1% は CAR バチルス陽性であった [11]。米国ではテキサス州ヒューストンの穀物倉庫 [24] やアイオワ州中部 [8] の野生ラットでも本菌の報告がある。ニュージーランドの野生およびペットショップのラット [20]、オーストラリアの野生マウス（*spinifex hopping-mouse* (*Notomys alexis*)) [25] でも CAR バチルス様の細菌が認められ、世界中の多くの地域で野生齧歯類が本菌に感染している。これら野生齧歯類が実験用ラット・マウスコロニーにおける本菌の感染源となる可能性はあるが、その観点からの検討は十分にはなされていない。日本ならびにアジアの野生ラットが本菌に感染しているかどうかの報告はない。

#### e. 感染率および致死率

2008 年の Charles River Laboratories のモニタリング報告 [34] によると、マウスの北米における CAR バチルス陽性率は 0.01%、ヨーロッパにおける同陽性率は 0.00%、ラットの北米における同陽性率は 0.27%、ヨーロッパにおける同陽性率は 4.63% だった。また、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の 2006 年から 2011 年のモニタリング結果によると、ラットでのみ日本の複数飼育施設において CAR バチルス陽性が確認されている [19, 22]。

感染率および致死率はセンダイウイルスや肺マイコプラズマなどの共存病原体による重複感染に影響されるとされる [42]。

#### f. 臨床症状

ラットでは体重減少、呼吸困難などの症状を示すことがあるが、不顕性感染が多い [17]。「実験動物の感染症の対応マニュアル」[1]によると、「ゴロゴロという異常音は、本症を疑わせる特徴的な臨床聴講である。このような徴候を示すラットの一部は背を丸め、呼吸困難を呈する」とある。同様の臨床像はマウスでも見られる [17]。

ウサギでは臨床症状はほとんど見られない [17]。

#### g. 診断

本菌は寒天培地での分離培養ができないため、血清学的診断法（蛍光抗体法や ELISA）で陽性の結果が出た場合は、気管支洗浄液や鼻腔粘液、病変部の

抽出 DNA を用いた PCR 法および気道の病理学的診断法（通常の HE 染色および銀染色）によって確定診断する。具体的な検査方法については下記参照。

#### h. 実験への影響

CAR バチルスが感染すると、感染部位に好中球やリンパ球が浸潤し、特有の炎症像（気管支周囲炎（単核細胞のカフ状集簇）や軽度の化膿性気管支肺炎）を示す。IgM および IgG クラスの特異抗体は産生される [21] が炎症抑制ならびに感染治癒には働かず、発症したラットやマウスから症状が消退することはない。また上記のように、本菌に感染したマウスはサイトカイン産生の混乱を来すことがある。

### 3. 感染制御 / 予防

#### a. バイオセーフティ

ヒトへの感染報告はない [42]。本菌は 56°C 30 分の熱処理で死滅する [15]。

CAR バチルスは免疫正常なラットに自然感染することからバイオセーフティレベル 2 に分類されている（3 など、下記も参照）。国立大学法人動物実験施設協議会が策定した「実験動物の授受に関するガイドライン」では本菌に関し、ラット・マウスともに、カテゴリ C、発生頻度☆（過去 10 年程度国内外での発生がほとんどない）、微生物学的ステータス Excellent とし、不定期検査（飼育施設の状況や実験目的に応じて随時検査を行うが、将来的に国内の検査体制の整備や検査キットの開発に応じて定期検査とすべき）でよいとしている [4]。

#### b. 清浄化方法

CAR バチルスは抗生物質に弱く、ラット由来 SMR 株を BALB/cNrs に経鼻実験感染し、その前後にスルファメラジン、アンピシリン、クロルテトラサイクリンを投与したところ、いずれも病原性減弱を示したが、スルファメラジンの効果が際立っていたという [29]。

本菌による胎盤感染や、子宮・卵管の汚染の報告はなく、本菌排除には、帝王切開や胚移植が有効であろう [42]。

### 4. 検査方法

#### a. 分離

感染臓器等から本菌を分離する際は、孵化鶏卵の漿尿膜腔培養法や動物を用いた継代法が用いられた。ただし、最近はワクチン作製グレードの高品質の孵

化鶏卵の入手が難しく、孵化鶏卵を用いて本菌の分離を図る場合は鶏卵種の選択が必要である。マウスを用いた継代には、本菌に感受性の清浄な BALB/c 系統を用いるとよい。培養細胞に本菌を *in vitro* で感染させて分離する場合は、3T3 細胞や IEC-18 細胞などが用いられる。本分離法についても必ずしもうまくいくとは限らず、細胞種や培養条件の検討が必要となる。

#### b. 抗体検査

宿主は本病原体に対して感染の早い時期に抗体を産生する [17] ため、モニタリングには蛍光抗体法 [27] や ELISA 検査 [38] などの血清学的検査が一般に用いられる。市販の診断キットはない。ELISA プレートは ExpressBio 社 ([www.xpressbio.com](http://www.xpressbio.com)) などから入手可能であるが、海外から取り寄せて自前で評価する必要がある。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や日本チャールス・リバー株式会社モニタリングセンターは血清検査を請け負っている。

#### c. PCR

鼻腔拭い液を用いた PCR 法 [14] と口腔・鼻腔・気管支拭い液を用いた RT-PCR 法 [16] の報告がある。我々の経験では、両報告ともにラット由来 SMR 株の 16S rRNA 遺伝子を増幅可能であった。ただし、前者の報告 [14] に記載の RF141 プライマは塩基配列が間違っているので注意を要する。

#### d. 組織病理学

中耳、耳管、気道、肺のパラフィン切片を HE 染色して光学顕微鏡下で観察すると、線毛上皮細胞上に本菌の存在を認める。また、Warthin-Starry 法の銀染色を行うと本菌を黒く染め出すことができる [7]。また免疫染色も可能である [33]。病変部位の透過電子顕微鏡あるいは走査電子顕微鏡による観察も用いられる。

### 5. 感染実験

#### a. 感染症モデル

齧歯類由来株のラット、マウス、ウサギ、モルモット、ハムスター、スナネズミへの経鼻感染実験 [28, 39, 41] と、ブタ由来株のラット、マウス、ブタへの経鼻感染実験の報告がある [32]。

#### b. 封じ込めレベル

国立感染症研究所では CAR パチルスについて、

感染実験の動物バイオセーフティレベル (ABSL) をレベル 2 としている [3]。

#### 謝 辞

本項記述に際し、独立行政法人放射線医学総合研究所の松下 悟先生ならびに小久保年章先生からご意見をいただいた。ここに感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) 「実験動物感染症の対応マニュアル」前島一淑監修 株式会社アドスリー p.181, 2000.
- 2) 「実験動物としてのマウス・ラットの感染症対策と予防」(社)日本実験動物学会監修, (社)日本実験動物学会, マウス・ラットの感染症対策委員会編集 株式会社アドスリー p.176, 2011.
- 3) 国立感染症研究所 [Internet]. 病原体等安全管理規程 (改訂第三版). Available at [www0.nih.go.jp/niid/ja/Biosafety/kanrikitei3](http://www0.nih.go.jp/niid/ja/Biosafety/kanrikitei3)
- 4) 国立大学法人動物実験施設協議会 [Internet] 実験動物の授受に関するガイドライン (平成 24 年 12 月 21 日). Available at [www.kokudoukyou.org/index.php?page=kankoku\\_juju](http://www.kokudoukyou.org/index.php?page=kankoku_juju)
- 5) 実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター [Internet]. わが国の動物実験施設の微生物モニタリング成績. Available at [www.iclasmonic.jp/jigyou/results/monipos.html](http://www.iclasmonic.jp/jigyou/results/monipos.html)
- 6) Baker, D.G. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 231–266.
- 7) Bergottini, R., Mattiello, S., Crippa, L., and Scanziani, E. 2005. Cilia-associated respiratory (CAR) bacillus infection in adult red deer, chamois, and roe deer. *J. Wildlife Dis.* 41: 459–462.
- 8) Brogden K.A., Cutlip, R.C., and Lehmkuhl, H.D. 1993. Cilia-associated respiratory bacillus in wild rats in central Iowa. *J. Wildl. Dis.* 29: 123–126.
- 9) Caniatti, M., Crippa, L., Giusti, M., Mattiello, S., Grilli, G., Orsenigo, R., and Scanziani, E. 1998. Cilia-Associated Respiratory (CAR) Bacillus Infection In Conventionally Reared Rabbits. *Zentralbl. Veterinar-med. B.* 45: 363–371.
- 10) Cundiff, D.D., Besch-Williford, C.L., Hook, R.R. Jr., Franklin, C.L., and Riley, L.K. 1995. Characterization of cilia-associated respiratory bacillus in rabbits and analysis of the 16S rRNA gene sequence. *Lab. Anim. Sci.* 45: 22–26.

- 11) Easterbrook J.D., Kaplan, J.B., Glass, G.E., Watson, J., and Klein, S.L. 2008. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild-caught Norway rats: a potential threat to laboratory rodent colonies. *Lab. Anim.* 42: 92–98.
- 12) Fernández A. Orós, J., Rodríguez, J.L., King, J., and Poveda, J.B. 1996. Morphological evidence of a filamentous cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in goats. *Vet. Pathol.* 33: 445–447.
- 13) France, M.P. 1994. Cilia-associated respiratory bacillus infection in laboratory rats with chronic respiratory disease. *Aust. Vet. J.* 71: 350–351.
- 14) Franklin, C.L., Pletz, J.D., Riley, L.K., Livingston, B.A., Hook, R.R. Jr., and Besch-Williford, C.L. 1999. Detection of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in nasal-swab specimens from infected rats by use of polymerase chain reaction. *Lab. Anim. Sci.* 49: 114–1179.
- 15) Ganaway, J.R., Spencer, T.H., Moore, T.D., and Allen, A.M. 1985. Isolation, propagation, and characterization of a newly recognized pathogen, cilia-associated respiratory bacillus of rats, an etiological agent of chronic respiratory disease. *Infect. Immun.* 47: 472–479.
- 16) Goto, K., Nozu, R., Takakura, A., Matsushita, S., and Itoh, T. 1995. Detection of cilia-associated respiratory bacillus in experimentally and naturally infected mice and rats by the polymerase chain reaction. *Exp. Anim.* 44: 333–336.
- 17) Hansen A.K. "Cilia-associated respiratory bacillus" In *Handbook of Laboratory Animal Bacteriology*, CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 211–214. 2000.
- 18) Hastie, A.T. 1993. Two types of bacteria adherent to bovine respiratory tract ciliated epithelium. *Vet. Pathol.* 30: 12–19.
- 19) Hayashimoto N. Morita, H., Ishida, T., Yasuda, M., Kameda, S., Uchida, R., Tanaka, M., Ozawa, M., Sato, A., Takakura, A., Itoh, T., and Kagiya, N. 2013. Current Microbiological Status of Laboratory Mice and Rats in Experimental Facilities in Japan. *Exp. Anim.* 62: 41–48.
- 20) Kakrada, M. K., Lumsden, J.S., Lee, E.A., and Collett, M.G. 2002. Cilia-associated respiratory bacillus infection in rats in New Zealand. *N. Zeal. Vet. J.* 50: 81–82.
- 21) Kendall L.V. Riley, L.K., Hook, R.R.Jr., Besch-Williford, C.L., and Franklin, C.L. 2000. Antibody and cytokine responses to the cilium-associated respiratory bacillus in BALB/c and C57BL/6 mice. *Infect. Immun.* 68: 4961–4967.
- 22) Kokubo, T. and Matsushita, S. 2009. Evaluation of new cage lid with partitioning barrier based on transmission of CAR bacillus in mice. *Exp. Anim.* 58: 189–192.
- 23) Kurisu, K., Kyo, S., Shiimoto, Y., and Matsushita, S. 1990. Cilia-associated respiratory bacillus infection in rabbits. *Lab. Anim. Sci.* 40: 413–415.
- 24) MacKenzie, W.F., Magill, L.S., and Hulse, M. 1981. A filamentous bacterium associated with respiratory disease in wild rats. *Vet. Pathol.* 18: 836–839.
- 25) Mackie, J.T., Booth, R., Caton, W., and Stevenson, R. 2001. Concurrent infection with cilia-associated respiratory bacillus and mycoplasmas in spinifex hopping-mice (*Notomys alexis*) with pneumonia. *Aust. Vet. J.* 79: 502–504.
- 26) Matsushita, S., Booth, R., Caton, W., and Stevenson, R. 1986. Spontaneous respiratory disease associated with cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in a rat. *Jap. J. Vet. Sci.* 48: 437–440.
- 27) Matsushita S. Kashima, M., and Joshima, H. 1987. Serodiagnosis of cilia-associated respiratory bacillus infection by the indirect immunofluorescence assay technique. *Lab. Anim.* 21: 356–359.
- 28) Matsushita, S., Joshima, H., Matsumoto, T., and Fukutsu, K. 1989. Transmission experiments of cilia-associated respiratory bacillus in mice, rabbits and guineapigs. *Lab. Anim.* 23: 96–102.
- 29) Matsushita, S., and Suzuki, E. 1995. Prevention and treatment of cilia-associated respiratory bacillus in mice by use of antibiotics. *Lab. Anim. Sci.* 45: 503–507.
- 30) Medina, L.V., Fortman, J.D., Bunte, R.M., and Bennett, B.T. 1994. Respiratory disease in a rat colony: identification of CAR bacillus without other respiratory pathogens by standard diagnostic screening methods. *Lab. Anim. Sci.* 44: 521–525.
- 31) Nakane, D., Sato, K., Wada, H., McBride, M.J., and Nakayama, K. 2013. Helical flow of surface protein required for bacterial gliding motility. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 110: 11145–11150.
- 32) Nietfeld, J.C., Fickbohm, B.L., Rogers, D.G., Franklin, C.L., and Riley, L.K. 1999. Isolation of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus from pigs and calves and experimental infection of gnotobiotic pigs and rodents. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11: 252–258.
- 33) Orós, J., Matsushita, S., Rodríguez, J.L., Rodríguez,

- F., and Fernández, A. 1996. Demonstration of rat CAR bacillus using a labelled streptavidin biotin (LSAB) method. *J. Vet. Med. Sci.* 58: 1219–1221.
- 34) Pritchett-Corning K.R., Cosentino, J., and Clifford, C.B. 2009. Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Lab. Anim.* 43: 165–173.
- 35) Ramos-Vara J.A., Franklin, C., and Miller, M.A. 2002. Bronchitis and bronchiolitis in a cat with cilia-associated respiratory bacillus-like organisms. *Vet. Pathol.* 39: 501–504.
- 36) Schoeb, T.R., Dybvig, K., Davidson, M.K., and Davis, J.K. 1993. Cultivation of cilia-associated respiratory bacillus in artificial medium and determination of the 16S rRNA gene sequence. *J. Clin. Microbiol.* 31: 2751–2757.
- 37) Schoeb T.R., Davidson, M.K., and Davis, J.K. 1997. Pathogenicity of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus isolates for F344, LEW, and SD rats. *Vet. Pathol.* 34: 263–270.
- 38) Shoji, Y., Nozu, R., Takakura, A., Matsushita, S., and Itoh, T. 1988. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to CAR bacillus. *Exp. Anim.* 37: 67–72.
- 39) Shoji, Y., Itoh, T., and Kagiya, N. 1991. Pathogenesis of CAR bacillus in rabbits, guinea pigs, Syrian hamsters, and mice. *Lab. Anim. Sci.* 41: 567–571.
- 40) Shoji, Y., Itoh, T., and Kagiya, N. 1992. Propagation of CAR bacillus in artificial media. *Exp. Anim.* 41: 231–234.
- 41) St Clair, M.B., Besch-Williford, C.L., Riley, L.K., Hook, R.R. Jr., and Franklin, C.L. 1999. Experimentally induced infection of gerbils with cilia-associated respiratory bacillus. *Lab. Anim. Sci.* 49: 421–423.
- 42) Waggle, K., Kagiya, N., and Itoh, T. 1994. “Cilia Associated Respiratory” (CAR) Bacillus. In: Waggle K. et al. editors. *Manual of microbiologic monitoring of laboratory animals*, 2nd ed. Bethesda (MD): National Center for Research Resources. NIH Publication no. 94–2498. p. 121–123.
- 43) Watson, V.E., Rech, R.R., Gyimesi, Z.S., and Howarth, E.W. 2011. Cilia-associated Respiratory (CAR) Bacillus-like Organism (CLO) Identified in a Banded Rock Rattlesnake (*Crotalus lepidus klauberi*). *J. Herpetol. Med. Surg.* 21: 50–53.
- 44) Van Zwieten, M.J., Solleveld, H.A., Lindsey, J.R., de Groot, F.G., Zurcher, C., and Hollander, C.F. 1980. Respiratory disease in rats associated with a filamentous bacterium: a preliminary report. *Lab. Anim. Sci.* 30: 215–221.