

日本における牛呼吸器感染症に関わる細菌の浸潤調査

高橋 俊彦¹⁾・北野 菜奈¹⁾・加藤 敏英²⁾
樋口 豪紀²⁾・井上 誠司¹⁾

Investigation of infiltration of bacteria related to bovine respiratory infection in Japan

Toshihiko TAKAHASHI¹⁾, Nana KITANO¹⁾, Toshihide KATOU²⁾, Hidetoshi HIGUCHI²⁾, Seiji INOUE¹⁾
(Accepted 29 November 2018)

はじめに

近年、日本では乳用牛、肉用牛ともに年々飼養頭数、飼養戸数は減少しているが一戸当たりの飼養頭数は増加しており、経営形態の大規模化が進んでいる（農林水産省 2015）。それに伴い病傷事故別の牛呼吸器病は 2008 年が乳牛の胎児・出生子牛で 34.7%、肉牛の胎児・出生子牛 26.5% だったのに対し 2013 年は乳牛の胎児・出生子牛 40.6%、肉牛の胎児・出生子牛は 34.8% と年々多発傾向にある^[8]。

牛呼吸器複合病（BRDC：Bovine Respiratory Disease Complex）の発生に関わる細菌は上部気道（鼻腔や扁桃）に常在しているといわれている。しかし上部気道は線毛があり、細菌が増えるのにあまり都合の良い場所ではないため、これらの細菌は居心地の良い肺に侵入しようとするが、牛が健康であれば侵入を排除することが出来る。しかし、長距離輸送や過密飼育、頻繁な群編成などによるストレスの増加により、免疫機能が低下し細菌が肺に侵入し、増殖する。また免疫機能が低下することにより、ウイルス（：牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛 RS ウイルス、牛パラインフルエンザウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛アデノウイルス 7 型）や細菌（*Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*）などの病原体の感染を受けやすくなる。このように従来は単一病原体による呼吸器疾病とされていたが、最近では数種の細菌・ウイルスによる混合感染による複合感染症を呈し、複雑な症状を引き起こすため臨床現場での対応は困難を極めている。

また、冬期に発症するケースが多く、発症すると

一般的に発熱、発咳、鼻汁漏出や食欲減退、増体量低下などの臨床症状が認められ、生産性に大きな影響を与える。治療を施しても、慢性肺炎となるケースも多く、農場における経済的損失は大きい。

しかし、BRDC に関わる細菌の浸潤状況は同一農場や同一地域での調査が多く、全国的な細菌の浸潤状況の調査は少ない。そこで今回、BRDC に関わる *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*)、*Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*)、*Pasteurella multocida* (*P. multocida*) 及び *Histophilus somni* (*H. somni*) の 4 菌種について、全国での細菌の浸潤状況を調査した。

材料及び方法

調査は平成 26 年 9 月と平成 27 年 3 月の 2 回、それぞれ夏期採材、冬期採材とした。供試牛は臨床的に健康な子牛（45±12 日齢）で、夏期の北海道（道東 50 頭、オホーツク 10 頭、留萌 10 頭、道南 10 頭）80 頭、本州以南（山形・静岡・滋賀・長崎の 4 県から 10 頭ずつ）40 頭合計 120 頭、冬期の北海道（道東 41 頭、オホーツク 10 頭、留萌 10 頭、道南 10 頭）71 頭、本州以南（山形・静岡・滋賀・長崎の 4 県から 10 頭ずつ）40 頭合計 111 頭であった。

採材方法は滅菌鼻腔スワブを用い、鼻孔はアルコールで充分清拭し、滅菌鼻腔スワブを鼻孔内壁に触れないようできるだけ深部まで挿入し採取した。

実験方法は、*M. bovis* の検出にはマイコプラズマ用液体培地を用い、鼻腔スワブを培地に接種し好気性下にて 37.0℃ で 72 時間培養後、特異的プライマーを用いて PCR 法により検出した。一方 *M. haemolytica*, *P. multocida*, 及び *H. somni* の検出にはミューラーヒントン液体培地を用い、鼻腔スワブを

¹⁾ 酪農学園大学大学院酪農学研究科
Graduate School of Dairy Science, Rakuno Gakuen University Graduate School, 582 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類
School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

培地に接種し好気性下にて 37.0℃ で 24 時間培養後、特異的プライマーを用いて、PCR 法により検出した。

統計処理は X² 検定を使用した。

結 果

1. 分離検体数

一種類でも菌分離した検体を地域別に夏期、冬期に分類した (Table 1)。

夏期の、全ての地域での分離検体数は *M. bovis* 18 検体, *M. haemolytica* 12 検体, *P. multocida* 34 検体, 冬期の分離検体数は *M. bovis* 19 検体, *M. haemolytica* 9 検体, *P. multocida* 18 検体であった。また夏期・冬期どちらにおいても全ての地域で *H. somni* は分離されなかった。

分離検体のうち、複数の菌を分離した頭数を複数

分離頭数とし、北海道、本州以南に分けて示した (Table 2)。このうち一つでも菌を分離した個体を保菌牛とし、その割合を示した (Fig. 1)。夏期で北海道 35/80 頭 (43.8%), 本州以南 11/40 頭 (27.5%), 冬期で北海道 33/71 頭 (46.5%), 本州以南 4/40 頭 (10.0%) と夏期冬期どちらも北海道で高い傾向であった。特に冬期において北海道で有意 ($p < 0.01$) に高かった。

2. 菌種別分離率

次に菌種別の分離率を夏期、冬期に分類した。*M. bovis* の分離率 (Fig. 2) は、夏期で北海道 16.3%, 本州以南 12.5%, 冬期で北海道 23.9%, 本州以南 5.0% であった。*M. haemolytica* の分離率 (Fig. 3) は、夏期で北海道 11.3%, 本州以南 7.5%, 冬期で北海道 12.7%, 本州以南 0.0% であった。*P. mul-*

Table 1 Number of separated specimens

夏期 n=120	<i>M.bovis</i>	<i>M.haemolytica</i>	<i>P.multocida</i>	<i>H.somni</i>
北海道	13	9	29	0
山形	1	0	0	0
静岡	3	0	0	0
滋賀	1	3	2	0
長崎	0	0	3	0
合計	18	12	34	0
冬期 n=112	<i>M.bovis</i>	<i>M.haemolytica</i>	<i>P.multocida</i>	<i>H.somni</i>
北海道	17	9	15	0
山形	1	0	1	0
静岡	0	0	1	0
滋賀	1	0	1	0
長崎	0	0	0	0
合計	19	9	18	0

Table 2 Number of Multiple separated specimens

夏期 n=120	<i>M.bovis</i> <i>M.haemolytica</i>	<i>M.bovis</i> <i>P.multocida</i>	<i>M.haemolytica</i> <i>P.multocida</i>	全て
北海道	1	9	2	2
本州以南	0	1	1	0
冬期 n=111	<i>M.bovis</i> <i>M.haemolytica</i>	<i>M.bovis</i> <i>P.multocida</i>	<i>M.haemolytica</i> <i>P.multocida</i>	全て
北海道	1	3	4	0
本州以南	0	1	0	0

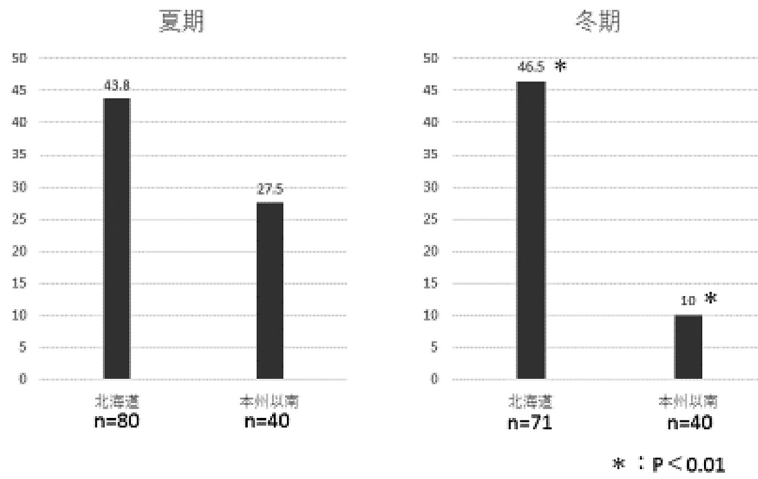


Fig. 1 Fungal infection rate (%)

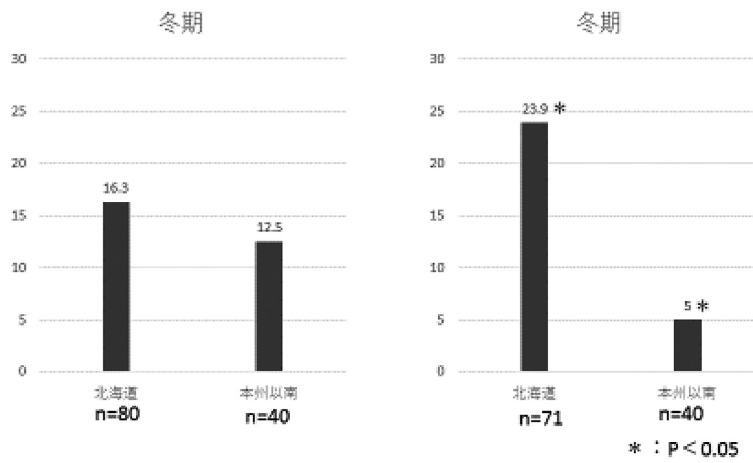


Fig. 2 infection rate (*M. bovis*) %

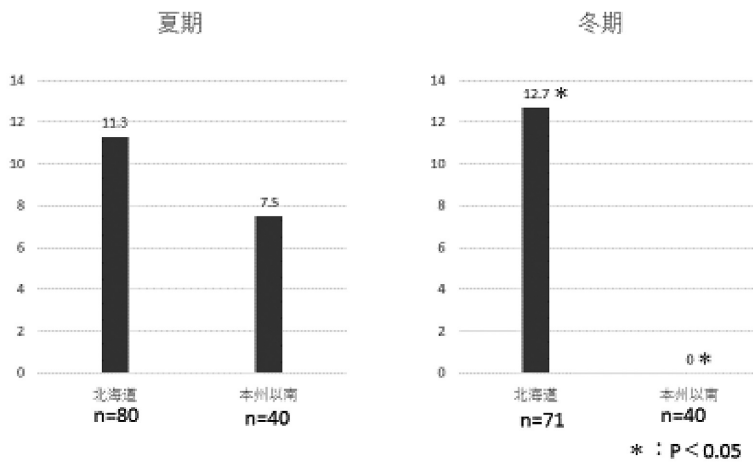


Fig. 3 infection rate (*M. haemolytica*) %

multocida の分離率 (Fig. 4) は, 夏期で北海道 36.3%, 本州以南 12.5% 冬期で北海道 21.1%, 本州以南 7.5% であった。3 菌種とも夏期冬期どちらも北海道で高い傾向であった。特に *M. bovis* と *M. haemolytica* は冬期において, 北海道で有意 ($p < 0.05$) に高かった。また *P. multocida* は夏期において北海道で有意 ($p < 0.01$) に高かった。

3. 雌雄間での比較

雌雄間での分離率の比較を夏期, 冬期に分類した (Table 3)。夏期の保菌率は雄 18.2%, 雌 42.9% と雌が雄より有意 ($p < 0.05$) に高かった。菌種別でも 3 菌種とも雌が雄より高い傾向で, 特に *P. multocida* で雄 4.5%, 雌 34.4% と雌が雄より有意 ($p < 0.01$) 高かった。冬期は雄 9.5%, 雌 38.9% と雌が雄より有意 ($p < 0.05$) に高かった。また 3 菌種と

も有意な差はなかったが, 雌が雄より高い傾向であった。

4. 品種間での比較

乳用種と肉用種別の分離率を夏期, 冬期に分類した (Table 4)。冬期は保菌率が乳用種 43.2%, 肉用種 6.7% と, 乳用種が肉用種より有意 ($p < 0.01$) に高かった。菌種別でも 3 菌種とも乳用種が肉用種よりも高い傾向で, 特に *P. multocida* で乳用種 19.7%, 肉用種 3.4% と, 乳用種が肉用種より有意 ($p < 0.05$) に高かった。夏期での保菌率, 菌種別分離率とも有意な差はみられなかったが, すべて乳用種が肉用種より高い傾向であった。

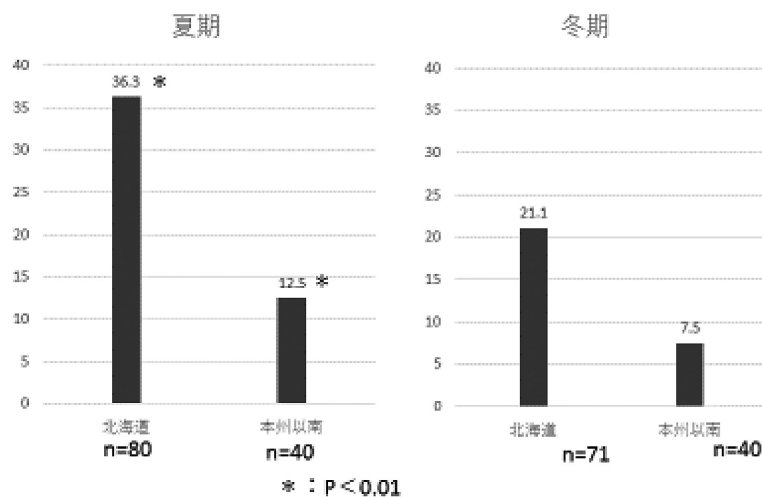


Fig. 4 infection rate (*P. multocida*) %

Table 3 Male/female ratio

夏期	検体数	<i>M. bovis</i>	<i>M. h</i>	<i>P. m</i>	保菌数
♀	98	15 15.3%	11 11.2%	33 34.4% ^b	42 42.9% ^a
♂	22	3 13.6%	1 4.5%	1 4.5% ^b	4 18.2% ^a
冬期	検体数	<i>M. bovis</i>	<i>M. h</i>	<i>P. m</i>	保菌数
♀	90	18 20%	9 10%	16 17.8%	35 38.9% ^c
♂	21	1 4.8%	0 0%	2 9.5%	2 9.5% ^c

a-a,c-c : $P < 0.05$

b-b : $P < 0.01$

Table 4 Variety ratio

夏期	検体数	<i>M.bovis</i>	<i>M.h</i>	<i>P.m</i>	保菌数
ホルスタイン	91	15 16.4%	9 9.8%	29 31.8%	37 40.7%
肉牛 (黒毛・F1)	29 20・9	3 10.3%	2 6.8%	5 17.2%	8 27.6%

冬期	検体数	<i>M.bovis</i>	<i>M.h</i>	<i>P.m</i>	保菌数
ホルスタイン	81	17 21%	9 11.1%	16 19.7% ^a	35 43.2% ^b
肉牛 (黒毛・F1)	30 21・9	2 6.7%	0 0%	1 3.4% ^a	2 6.7% ^b

5. 北海道での季節性の比較

北海道の夏期と冬期の保菌率また菌種別の比較をした。保菌率は夏期 43.8%, 冬期 46.5% (Fig. 1)。各菌の分離率は *M. bovis* で夏期 16.3%, 冬期 23.9% (Fig. 2), *M. haemolytica* で夏期 11.3%, 冬期 12.7% (Fig. 3), *P. multocida* で夏期 36.3%, 冬期 21.2% (Fig. 4) と保菌率と *M. bovis*, *M. haemolytica* の分離率は冬期で高い傾向にあった。逆に *P. multocida* は夏期が冬期より有意 ($p < 0.05$) に高かった。

6. 本州以南での季節性の比較

本州以南の夏期と冬期の保菌率また菌種別の比較をした。保菌率は夏期 27.5%, 冬期 10.0% (Fig. 1)。各菌の分離率は *M. bovis* で夏期 12.5%, 冬期 5.0% (Fig. 2), *M. haemolytica* で夏期 7.5%, 冬期 0.0% (Fig. 3), *P. multocida* で夏期 12.5%, 冬期 7.5% (Fig. 4) と、全ての項目で夏期が高い傾向にあり、特に保菌率は夏期が冬期より有意 ($p < 0.05$) に高かった。

考 察

1. 分離検体数

本調査では、健康な子牛を供試したが BRDC に関わる細菌が分離された。これらは、BRDC 発生に関わる細菌は上部気道（鼻腔や扁桃）に常在しているといわれていること、また加藤ら^[4]は、臨床的に健康な牛の鼻汁を用いて牛呼吸器感染症起因菌の分離を試みた結果、農場によって分離微生物の種類や分離率に差は見られなかったものの、多くの供試牛から分離され *P. multocida*, *M. bovis* 及び *M. haemolytica* の分離率が高い傾向がみられたと報告しており、本調査の結果とほぼ一致し、健康な子牛に

においてもこれらの菌は常在していることが示唆された。*H. somni* は分離されなかったが、このことも加藤ら^[3]の報告と一致していた。

また保菌率は北海道において本州以南より高かったことより、BRDC 発生の危険性が高いと思われた。このことは家畜共済統計表で呼吸器病発症割合が本州以南より北海道が乳用種と肉用種どちらも高いこと^[8]を支持している。

2. 菌種別分離率

北海道は本州以南に比べ菌種別分離率が高い傾向にあった。BRDC は群飼育頭数や密飼いなどによるストレスの重要性が示唆されており^[2,7,9]、このことから、夏期・冬期どちらにおいても北海道で高い傾向であったということは、季節性のストレスではなく、大規模飼育などによる飼育環境による要因だと考えられた。しかし、今回は飼育環境での比較は行っていないため、今後検討しなければならない。

また *P. multocida* が *M. haemolytica* よりも多く分離された。これは Cravens RL ら^[10]、加藤ら^[5]と一致する。

夏期に *P. multocida* が有意に高かったのは、*M. haemolytica* はストレスにさらされると爆発的に増殖するが、*P. multocida* はその増殖速度を変えることはなく、そのため *M. bovis* のような病原菌というよりは日和見的細菌であることが報告されている^[10] ことと、今回の調査では同じ地域や農場から多く分離され（特に北海道）偏りがあったためと考えられた。しかし、全ての菌種の夏期、冬期どちらも北海道が本州以南に比べ分離率が高い傾向であったため季節に関係なく年間を通じて、適切な衛生管理やストレスを軽減させることが BRDC の予防に重要であると思われた。

3. 雌雄間での比較

雌雄間での比較で犬塚^[2]は去勢の場合、雌よりも1.65回の治療回数の増加があったと報告している。またBureauら^[1]は雌牛が雄牛よりも換気能の違いによりBRDCの発生が低いと報告している。しかし、本調査では夏期・冬期において雄より雌で保菌率、菌種別分離率ともに高い傾向であった。これは本調査地域において雌が北海道、雄は本州以南と偏っていたためと思われた。今後は同一地域での分離率の差異を調査しなければならない。

4. 品種間での比較

品種間での比較ではCravens RLら^[10]が*M. haemolytica*において肉牛でより優勢と報告している。本調査では夏期・冬期において肉用種より乳用種で保菌率、菌種別分離率とも高い傾向であった。しかし、雌雄間での比較と同様に、本調査地域において乳用種が北海道、肉用種は本州以南からの採材に偏っていたためと考えられた。

5. 北海道での季節性の比較

北海道では、*P. multocida*以外で夏期よりも冬期において保菌率、菌種別分離率が高い傾向であった。二次的病原菌の増殖を誘発する要因として免疫力低下と各種ストレスが挙げられ、最も強いストレスは輸送(導入)と報告されている^[12]が、季節性による菌分離率差の報告はない。*M. haemolytica*はストレスで増殖する^[10]と報告されているが、北海道では冬の寒さが厳しいため、保菌率、菌種別分離率も冬期で高い傾向であったと考えられた。すなわち、寒冷ストレスがBRDCに関わる細菌の浸潤に関与している可能性が示唆された。

6. 本州以南での季節性の比較

本州以南では保菌率、菌種別分離率は冬期よりも夏期で高い傾向であった。本州以南では冬の寒さよりも夏の暑さが強く、牛は暑熱ストレスに弱いこと^[6]が知られているが、暑熱によるストレスもBRDCに関わる細菌の浸潤に関与している可能性が示唆された。つまり、北海道、本州以南での季節性の寒冷・暑熱ストレスによる菌の増殖を防止するため畜舎管理、一般衛生管理が重要であると思われた。

要 約

本調査はBRDCに関わる4種(*Mycoplasma bovis* (*M. bovis*)), *Mannheimia haemolytica* (*M.*

haemolytica), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), 及び*Histophilus somni* (*H. somni*)の全国の浸潤状況を調査する目的で、北海道と本州以南(山形、静岡、滋賀、長崎)の調査を行った。

平成26年9月の夏期採材120頭(北海道80、本州以南40)と平成27年3月の冬期採材111頭(北海道71、本州以南40)の臨床的に健康な子牛(45±12日齢)を供試した。

保菌頭数は夏期で北海道35/80(43.8%)、本州以南11/40(27.5%)、冬期で北海道33/71(46.5%)、本州以南4/40(10.0%)であり、北海道で高い傾向であり、特に冬期の北海道において有意($p<0.01$)に高かった。菌種別では、北海道で高い傾向であり、*M. bovis*と*M. haemolytica*は冬期においてそれぞれ、北海道では17/71(23.9%)と9/71(12.7%)、本州以南では2/40(5.0%)と0/40(0.0%)であり北海道で有意($p<0.05$)に高かった。また*P. multocida*は夏期において北海道29/80(36.3%)、本州以南5/40(12.5%)であり、北海道で有意($p<0.01$)に高かった。

健康な子牛がBRDCに関わる細菌を保有していることが判明した。また北海道では本州以南に比べ、保菌率が高かったことより、BRDCの発生の危険性が高いと思われる。このことは平成25年度家畜共済統計表の呼吸器病発生率が高値であることと相関している。雌雄間、品種間では明確な差はなかったものの、北海道で冬期、本州以南では夏期に保菌率が高い傾向であったことから、北海道では寒冷ストレス、本州以南では暑熱ストレスを与えないような飼育環境、また北海道では本州以南に比べ保菌率、菌種別分離率が高い傾向で特に夏期に*P. multocida*が、冬期に*M. bovis*と*M. haemolytica*が有意に多く分離していたことから年間を通じ、適切な衛生管理やストレスを軽減させることがBRDCの予防に重要だと考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力をいただいた釧路地区NOSAI、オホーツクNOSAI、留萌地区NOSAI、道南NOSAIの獣医師の皆様、武藤動物病院 武藤守先生、NOSAI 滋賀 小林勇人先生、NOSAI 長崎 児嶋秀典先生、酪農学園大学獣医衛生学ユニットの皆様、畜産衛生学研究室の皆様へ深く感謝申し上げます。

本研究は、2014年度酪農学園大学学内共同研究によって実施された。

引用文献

- [1] Bureau, F. Detilleux, J. Dorts, T. et al. (2001) Spirometric performance in Belgian Blue calves: I. Effects on economic losses due to the bovine respiratory disease complex. *J. Anim. Sci.* 79, 1301-1304.
- [2] 犬塚一步 (2010) 牛の呼吸器感染症の発生に関するリスクファクター. *日本家畜臨床感染症研究会誌*. 5(2), 41-46.
- [3] 犬塚一步, 西清二, 大久保雅人, 松崎和俊, 湖上新蔵 (2007) 肉用種肥育牛導入後 60 日間の観察による呼吸器病発生状況およびマンヘミアワクチン投与による予防効果. *臨床獣医*. 25(10), 26-31.
- [4] 加藤敏英, 小屋正人, 渡辺栄次, 酒井淳一, 小形芳美, 曳沼徹 (1996) 肺炎罹患牛の鼻汁由来細菌およびマイコプラズマの薬剤感受性. *日獣会誌*. 49, 81-84.
- [5] 加藤敏英, 山本高根, 小形芳美, 漆山芳郎, 萩野祥樹, 齋藤博水 (2007) 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.
- [6] 久米新一 (2012) 高泌乳牛の代謝特性と暑熱ストレスの影響. *畜産の研究*. 65(9), 881-891.
- [7] 中川尚, 石田学 (2008) 子牛の呼吸器病が問題とされる繁殖和牛農家におけるマンヘミア・ヘモリチカ (1 型) 感染症不活化ワクチンの接種効果. *家畜診療*. 55, 577-582.
- [8] 農林水産省「2013 年度家畜共済統計表」<http://www.maff.go.jp/>
- [9] 大谷研文, 石川豊, 坂田昭次, 岡田郁子, 太田壮洋, 原田佳典, 三宅俊三, 篠田稔彦, 小澤忍, 細井英嗣 (1999) 牛床面積が肥育牛の行動と産肉性に及ぼす影響. *山口県畜産試験場報告*. 第 15 号, 57-65.
- [10] Ronald L. Cravens, MS, DVM (2004.) アメリカにおける牛呼吸器病候群の現状と対策. *臨床獣医*. 22(6), 15-19.
- [11] 佐藤真澄 (2011) きちんと知っておきたい牛の感染症. (株)デーリィ・ジャパン社. 6-9.
- [12] 富永潔 (2004) 牛呼吸器症候群 (BRDC) の概説及びわが国の BRDC における *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* の認識の重要性. *臨床獣医*. 22(6), 10-13.

Summary

This survey investigated the nationwide infiltration status of 4 species related to bovine respiratory disease complex (BRDC): *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), and *Histophilus somni* (*H. somni*). We conducted a survey of Hokkaido and four other prefectures south of it (Yamagata, Shizuoka, Shiga, and Nagasaki) in Japan.

We tested 120 clinically healthy calves in September 2014 (80 in Hokkaido and 40 in the other prefectures) and 111 clinically healthy calves (45 ± 12 days old; 71 in Hokkaido and 40 in the other areas) in March 2015.

In September, the number of infected calves in Hokkaido was 35/80 (43.8%), whereas in the other, more southerly, prefectures it was 11/40 (27.5%). In March, 33 of the 71 calves in Hokkaido (46.5%) were found to be infected, whereas only 4 of the 40 (10.0%) were in the other areas. Thus the rate of infection was significantly higher ($p < 0.01$) in Hokkaido in March, with the rates for *M. bovis* (17/71: 23.9%) and *M. haemolytica* (9/71: 12.7%) also significantly higher in Hokkaido ($p < 0.05$) than further south, where they were 2/40 (5.0 %) and 0/40 (0.0%), respectively. *P. multocida* was found in 29 of the 80 calves in Hokkaido 29/80 (36.3%) in September, and in 5 of the 40 (12.5%) in the other prefectures, with the rate being significantly ($p < 0.01$) higher in Hokkaido.

Thus, in Hokkaido, the possibility of occurrence of BRDC seemed to be higher than that in more southerly areas as the prevalence of colonization was higher. Since the prevalence of colonization was high in March in Hokkaido and in September in the more southern areas, it seems necessary to take measures to ensure a breeding environment that limits cold stress in Hokkaido and heat stress in the south.

In addition, in Hokkaido, the colonization rate for *P. multocida* and the bacterial isolation rates were higher than in the south, particularly during September, whereas the isolation rates for *M. bovis* and *M. haemolytica* were significantly higher in March. It is considered important to prevent BRDC via appropriate sanitation management and by reducing stress.

