

6 県営育成牧場の黒毛和種子牛呼吸器病起因菌の保菌状

況検査

中央家畜保健衛生所

○山本 栄子・石原 径佳

I はじめに

県営育成牧場では、県内酪農家から預託されている乳用牛に黒毛和種の受精卵移植を行い、受託終了後酪農家で生まれた子牛を約 2～3 日齢で買い取り、9 か月齢まで育成し、県内肉用農家に供給することによって、和牛生産基盤の強化を図る肉牛生産構造転換事業を 2014 年度から実施している（図 1）。当該牧場で 2019 年 4 月に買い取った、生後 2 日齢の黒毛和種子牛が呼吸器症状を呈し、約 1 か月後に死亡したため病性鑑定を実施したところ、細菌学的検査において肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺から *Mannheimia haemolytica* 血清型 2 (Mh2 型) が分離された。Mh や *Pasteurella multocida* (Pm) 等の牛呼吸器病起因菌は牛の鼻腔内に常在しており、宿主の免疫低下等によって増殖し、肺に侵入することで呼吸器病を発症させる¹⁾。その他に、輸送、環境温度の変化、密飼いなどによるストレスや、ウイルス感染などの複数の要因が絡むことで症状が重篤化する^{2,3)}。そのため、これらの菌による牛呼吸器病対策では予防及び適切な治療が重要となる。そこで、死亡子牛がいた牛舎における Mh 及び Pm の浸潤状況を把握し、今後の呼吸器病対策の参考とするため、保菌状況検査及び薬剤感受性試験を実施したので、その概要を報告する。

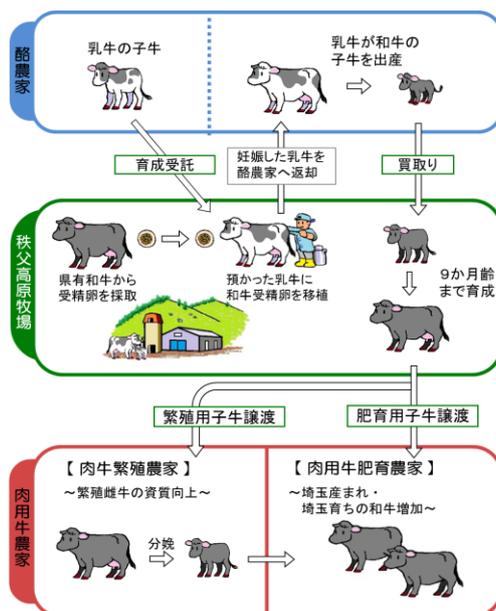


図 1 県営育成牧場で実施している肉牛生産構造転換事業

II 材料と方法

1 材料

2019年6月、7月、9月に採取した健康な黒毛和種子牛計36頭(延べ76頭)の鼻腔スワブを用いた。

2 方法

(1) 細菌分離

材料を5%羊血液加コロンビア寒天培地及びDHL寒天培地に塗抹した後、それぞれ37℃、5%CO₂条件下で48時間培養、好気条件下で24時間培養した。

(2) 菌種同定

菌種同定は簡易同定キット(IDテストHN-20ラピッド「ニッスイ」、日水製薬株式会社)を用いた生化学性状検査及びMh⁴⁾、Pm⁵⁾特異遺伝子を標的としたPCRを実施した。また、Mhの血清型別⁶⁾及びPmの莢膜型別⁵⁾はそれぞれの型別PCRを実施した。

(3) 薬剤感受性試験

分離された全てのMh株について、牧場で使用頻度の高い薬剤を中心に、ペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、セフトロキシム(CPDX)、セフトキシム(CTX)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、エリスロマイシン(EM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、ホスホマイシン(FOM)(センシディスク、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)、セフトロフル(CTF)、フロルフェニコール(FFC)、エンロフロキサシン(ERFX)(VKBディスク、栄研化学株式会社)の12薬剤について一濃度ディスク拡散法により薬剤感受性試験を実施した。

III 牛舎内配置図(図2)

買い取った子牛は個別牛房で1週間隔離飼育された後に群飼牛房に移動される。群飼牛房では、図2に示すとおり、東側から若齢の子牛が配置され、出荷に近づくにつれて西側に移動する。

表 2 Pm の分離成績

実施月	個 体 番 号																																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36		
6月																												NT										
7月	NT	NT																																				
9月	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT																									

■ : Pm が分離された個体

NT : 導入前又は出荷後のため、検査未実施

3 Mh の薬剤感受性試験成績 (表 3)

全 3 回の検査で分離された Mh 株 (14 株) は EM に対して、全ての株が耐性を示した。SM に対して、5 株が耐性、残り 9 株が中間、KM に対して、6 株が中間、残りの株が感受性を示した。その他の薬剤に対しては、いずれの株も感受性を示した。但し、No. 22 から分離された株は、6 月 (株 No. 11) と 9 月 (株 No. 12) で薬剤感受性に変化がみられ、SM に対し 6 月分離株は中間を示したが 9 月分離株は耐性を示し、KM に対し感受性から中間、PCG 及び ABPC に対し感受性から耐性に変化した。

表 3 Mh の薬剤感受性試験成績

株No.	個体No.	供 試 薬 剤											
		PCG	ABPC	CPDX	CTX	CTF	KM	SM	EM	OTC	FOM	FFC	ERFX
1	2	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
2	5	S	S	S	S	S	I	I	R	S	S	S	S
3	5	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
4	9	S	S	S	S	S	I	R	R	S	S	S	S
5	9	S	S	S	S	S	I	R	R	S	S	S	S
6	10	S	S	S	S	S	I	I	R	S	S	S	S
7	15	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
8	20	S	S	S	S	S	I	R	R	S	S	S	S
9	20	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
10	21	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
11	22	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
12	22	R	R	S	S	S	I	R	R	S	S	S	S
13	23	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
14	24	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S

■ Mh 株が 2 回分離された個体

S : 感性、I : 中間、R : 耐性

V まとめと考察

Mh 分離率は 6 月、7 月、9 月と検査回数を重ねるにつれて低下した。これは、5 月に死亡事例があったことから、その対策として牛呼吸器病細菌 3 種混合不活化ワクチ

ン（キャトルバクト 3、京都微研）の接種時期を 5 月以前に実施していた 6 週齢及び 10 週齢の 2 回接種から 3 週齢及び 7 週齢に早めたことや、薬剤感受性試験結果に基づき導入時に投与する抗菌薬の変更が有効であったことが示唆された。一方、Pm 分離率は、全ての検査で大きな差はみられなかった。Pm は臨床的に健康な牛の鼻腔からも高率に分離される^{7,8)}という報告もあり、今回の検査結果はそれらと一致した。

今回の検査では分離された全ての Mh 株が血清型 2 であり、薬剤耐性傾向もほぼ同じであることから、導入後に Mh が牧場内で水平感染したと推測した。しかし、1 頭において、6 月と 9 月で薬剤感受性に変化があったため、この期間に新たな株が侵入した可能性が示唆された。また、全ての Mh 株が EM に対して耐性を示したがこれは、2015 年以降の導入時に投与する抗菌薬としてマクロライド系抗菌薬（2015 年：チルミコシン、2016 年：タイロシン、2017 年～2019 年 5 月：ツラスロマイシン）を使用していたことが影響していると考えられた。Timsit らは、農場導入時にツラスロマイシンを投与した牛群から分離された Mh 株及び Pm 株のうち 7 割以上が、ツラスロマイシンに対して耐性を示した農場があることを報告している⁹⁾。また、抗菌薬投与群及び無処置群から分離した呼吸器病起因菌を比較すると、後者が有意に低い薬剤耐性率を示した¹⁰⁾報告もあることから、抗菌薬の使用は極力控え、ワクチン接種や飼養管理の徹底に、より重点を置くことが重要である。

当該牧場では複数の県内農場から子牛を定期的に導入しており、常に外部から病原体が侵入するリスクがあるため、継続して牧場内の疾病動向を調査することは意義が高いと考える。今後も調査を続け、子牛の細菌性呼吸器病に対する効果的な予防及びまん延防止に取り組んでいく。

VI 参考文献

- 1) 水戸康明, 植月義友 : 黒毛和種牛繁殖農場における牛呼吸器病症候群 (BRDC) 対策, 家畜診療, 63, 37-43 (2016)
- 2) Panciera RJ, Confer AW : Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia, Vet Clin North Am Food Anim Pract, 26, 191-214 (2010)
- 3) Sanderson MW, et al. : Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. Can Vet J, 49, 373-378 (2008)
- 4) Alexander TW, Cook SR, Yanke LJ, et al. : A multiplex polymerase chain reaction assay for the identification of *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida* and *Mannheimia ruminalis*. Vet Microbiol 2008, 130, 165-167 (2008)
- 5) Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B. : Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR

typing system. J Clin Microbiol 39, 924-929 (2001)

6) Klima CL, Zaheer R, Briggs RE, McAllister TA: A multiplex PCR assay for molecular capsular serotyping of *Mannheimia haemolytica* serotypes 1, 2, and 6. J Microbiol Methods 139, 155-160 (2017)

7) Shoo MK: Comparing different isolates of *Pasteurella haemolytica* from beef calves using their in vitro antimicrobial sensitivity patterns, Vet Microbiol, 20, 73-78 (1989)

8) 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)

9) Timsit E, Hallewell J, Booker C, et al.: Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* isolated from the lower respiratory tract of healthy feedlot cattle and those diagnosed with bovine respiratory disease. Vet Microbiol, 208, 118-125 (2017)

10) Magstadt, D.R., Schuler, A.M., Coetzee, J.F., Krull, A.C.1., O' Connor, A.M., Cooper, V.L., and Engelken, T.J.: Treatment history and antimicrobial susceptibility results for *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* isolates from bovine respiratory disease cases submitted to the Iowa State University Veterinary Diagnostic Laboratory from 2013 to 2015, Journal of veterinary diagnostic investigation, 30, 99-104 (2018)