

総説

臨床獣医師が考える子牛における牛RSウイルス病対策

叶 有斗

鹿児島県曾於農業共済組合 北部診療所
〒 899-8605 鹿児島県曾於市末吉町二之方 1980-3
Tel : 0986-76-1033、FAX : 0986-76-0387
E-mail : kano@nosai-soo.com

【要約】

管内の黒毛和種子牛多頭飼養農場の約8割では呼吸器病が集団発生する牛RSウイルス（BRSV）病の発生がみられる。本調査より生-不活化ワクチンプログラム（LK法）による予防が最も有効であり、本病の診療状況には月齢、過去の呼吸器病診療状況が影響を与えることがわかった。また、臨床現場での迅速診断として人RSV検出キットによる診断は特異度が高く、本キットを用いた牛群内に本病が蔓延する前の鼻腔粘膜ワクチン（TSV-2）の早期投与は費用対効果を高めた。しかし、過去の呼吸器病の診療回数の多い子牛では効果が低かった。本病発症子牛の気管支肺胞洗浄液（BALF）からは*P.multocida*、*M. bovis*が検出され細菌の混合感染を確認できた。*M. bovis*が検出されたのは過去の呼吸器病で多く治療を要した子牛であり、これらの子牛では*M. bovis*が感染していることで宿主の免疫抑制が起こりLK法や早期のTSV-2投与の効果が低かったと考えられた。またBALF中の細胞数測定では発症初期には好中球の著しい浸潤が認められた。未発症子牛へのTSV-2とツラスロマイシン（TM）の同時投与はTSV-2単独投与に比べ発症リスクを低下させた。これはTMの長期間持続する抗菌作用と抗炎症作用によるものと考えられた。しかしTMを投与しても過去に呼吸器病の治療を多く要した子牛の*M. bovis*の完全排除には至らなかった。

キーワード：牛RSウイルス、ツラスロマイシン、生-不活化ワクチン、人RSV検出キット、鼻腔粘膜ワクチン

【はじめに】

牛RSウイルス（BRSV）病は1968年に国内で初めて感染が報告されて以来、全国に広がり散発的な発生が報告されている [3, 11, 18]。管内の黒毛和種繁殖農場でも年間を通して発生がみられ、呼吸器病の集団発生の原因となるウイルス疾患の中では最も発生頻度が高く、さらには病原性も最も高い [5] ことから子牛へ与える影響は大きい。様々なワクチン接種プログラムが推奨されている [4] が臨床現場では対策

に苦慮しているのが現状である。今回、注射型のワクチネーションプログラム、本病に影響を与える因子、臨床現場での迅速診断法、鼻腔粘膜ワクチンおよびツラスロマイシンを用いた緊急時の対策、気管支肺胞洗浄を用いた病態把握についての調査を行った。

調査1 ワクチネーションプログラムおよびBRSV病に影響を与える因子の検討

【材料と方法】

(1) 農場概要

黒毛和種繁殖母牛を約150飼養する農場において2012年から2017年に子牛のBRSV病の

集団発生がみられた。発生時に飼養していた子牛 508 頭を供試した。子牛は 10 日齢で母子分離し、40 日齢まで個別ハッチ、90 日齢まで 1 群 8～9 頭の哺乳ロボット、離乳後は 1 群 3～4 頭で飼養し、9 ヶ月齢で市場出荷する飼養形態であった。

(2) BRSV 病対策

3.5 ヶ月齢以上の子牛に対策を行った。2013 年（以下 L 群）は 3.5 ヶ月齢に 5 種生ワクチン（牛 5 種混合生ワクチン、微生物化学研究所）を、2014 年（以下 LL 群）は 3.5 ヶ月齢に 5 種生ワクチン、4.5 ヶ月齢に RS 生ワクチン（牛 RS 生ワクチン、微生物化学研究所）を、2015 年（LK1 群）、2017 年（LK2 群）は 3.5 ヶ月齢に 5 種生ワクチン、4.5 ヶ月齢に 5 種不活化ワクチン（キャトルウイン 5K、微生物化学研究所）を接種した。2012 年（C 群）は BRSV ワクチン接種を行わなかった。

(3) 調査項目

BRSV 病が発生してからの発症率、死亡率、診療回数（回/頭）、BRSV 病発生以前の呼吸器病の診療回数（回/頭/月、以下過去の診療回数）、月齢を調査した。統計処理 EZR を用いて発症率はカイ 2 乗検定、死亡率は Fisher の正確確率検定、診療回数は Mann-Whitney の U 検定を各群間で行い、その後 Bonferroni 法により P 値の補正を行った。また R にて一般化線形モデル（負の二項回帰モデル）を用い発生時の診療回数を目的変数、ワクチン接種法、

過去の診療回数および月齢を説明変数として解析し、ワクチン接種法以外の要因が本病に与える影響を調査した。危険率 5% 未満で有意差ありとした。

【結果】

表 1 に結果を示した。発症率は LK1 群が C 群、LL 群に対し有意に低下し（ $P<0.05$ ）、LK2 群が C 群、L 群、LL 群に対し有意に低下した（ $P<0.05$ ）。死亡率は各群間に有意な差は認められなかった。診療回数は LK1 群が C 群、LL 群に対し有意に低下し（ $P<0.01$ ）、LK2 群は C 群、L 群、LL 群に対し有意に低下した（ $P<0.01$ ）。過去の診療回数は C 群が LL 群に対し有意に低下した（ $P<0.05$ ）。一般化線形モデルの結果を表 2 に示した。回帰係数推定値は LK1、LK2、月齢が負の値（ $P<0.01$ ）、過去の診療回数が正の値（ $P<0.01$ ）となった。

【考察】

3.5 ヶ月齢以上の子牛の本病の発症率、死亡率、診療回数、診療点数の結果から LK 投与した群は発症する子牛が最も少なく、発症しても軽症化していることから LK 投与が最も有効であると考えられた。CD8 細胞を主体とする細胞性免疫は BRSV 排除に中心的な役割を果たし [12]、BRSV に中和能を有する抗体は BRSV 感染を阻止する [13] ことが報告されている。また、黒毛和種子牛において LK 投与は他の投与法に比べ BRSV に対する抗体価が最も上昇すること [7]、細胞性免疫および液性免

表 1 BRSV 病の発症状況、診療状況および月齢

| | 発症率 | 死亡率 | 診療回数(回/頭) | 過去の診療回数(回/頭/月) | 月齢 |
|------------|-------------------|-------------|-----------------|--------------------|---------------|
| C群(n=48) | 77.1% (37/48) a | 3.6% (3/48) | 3 [1-4.25] a, e | 0.6 [0.1-2.1] c, g | 6.1 [4.6-7.5] |
| L群(n=52) | 63.5% (33/52) c | 1.9% (1/52) | 3 [0-5] e, g | 1.4 [0.5-2.5] | 6.6 [4.5-8.1] |
| LL群(n=56) | 80.4% (45/56) a | 0.0% (0/56) | 3 [2-6] a, e | 1.4 [0.9-2.5] d | 5.8 [4.7-7.1] |
| LK1群(n=53) | 43.4% (23/53) b | 0.0% (0/53) | 0 [0-3] b, h | 1.1 [0.6-1.7] | 6.9 [4.9-8.4] |
| LK2群(n=64) | 34.4% (22/64) b,d | 0.0% (0/64) | 0 [0-2] f | 1.4 [0.8-2.2] h | 6.1 [5.1-7.5] |

a-b:p<0.01, c-d:p<0.05, e-f:p<0.01, g-h:p<0.1
診療回数、診療点数、月齢：中央値 [四分位範囲]

表 2 一般化線形モデル

| 説明変数 | 回帰係数推定値 | P値 |
|---------|---------|----|
| L(因子) | -0.21 | |
| LL(因子) | -0.10 | |
| LK1(因子) | -0.79 | ** |
| LK2(因子) | -1.25 | ** |
| 過去の診療回数 | 0.15 | ** |
| 月齢 | -0.43 | ** |

** : p<0.01

疫を最も誘導しやすい [8] という報告がある。以上から本調査の LK 投与群では本病発生時に液性免疫および細胞性免疫が作用し BRSV に対する抗原性が最も高かったと推察された。

一般化線形モデルの結果、LK 投与と月齢の回帰係数推定値が負となり本病の診療回数を低下させることがわかった。月齢が上がるのが本病発生時の診療回数を低下させる、つまり若齢ほど本病の抵抗性が低いことがわかった。また、回帰係数推定値が正の値となった過去の診療回数は本病発生時の診療回数を上昇させる影響を与え、BRSV の抵抗性が低いことがわかった。これは過去の診療回数が多い子牛は慢性化膿性気管支肺炎となっている可能性が考えられ、ワクチンに対する適切な免疫応答が起っていない状態、または易感染性状態となっていた可能性が考えられた。

以上のことから、本病対策としての子牛へのワクチネーションプログラムとしては LK 投与が最も有効であると考えられた。また若齢であることと過去の呼吸器病の診療回数が多いことは本病発症時の診療状況に負の影響を与えることもわかった。よって LK 接種時期を早めること、本病以外の呼吸器病をコントロールすることで対策の有効性はさらに高まると考えられた。

調査 2 臨床現場での迅速診断法と鼻腔粘膜ワクチン投与の検討

管内では注射型のワクチンによる予防を行っていない農場も散見される。そこで予防を実施していない農場への緊急時の対策として人用 RSV 検出キットと鼻腔粘膜ワクチンを用いた調査を行った。

【材料と方法】

供試牛

過去に本病の発生を認めた、注射型ワクチンによる予防を行っていない黒毛和種繁殖 12 農場を供試農場とし、2015 年 10 月～2018 年 2 月の本病発生時に飼養していた子牛 996 頭を供試牛とした。

迅速診断法の検討

人 RSV 検出キット（チェック RSV、Meiji

Seika ファルマ株式会社）を全農場で使用した（3～11 頭 / 農場）。その内の 9 農場（46 頭）において判定結果を BRSV の気管支肺胞洗浄液（BALF）からの検出結果、ペア血清抗体価の上昇の有無、または鼻腔スワブの遺伝子検査結果による診断と比較し感度と特異度を調査した。

鼻腔粘膜ワクチン投与の検討

12 農場において検出キットで陽性と判定したら即日当該農場の子牛全頭に鼻腔粘膜ワクチン（TSV-2、ゾエティス・ジャパン株式会社）を投与した。調査項目は発症率、診療回数（回 / 頭）を対策前の発生時と比較した。また、過去の診療回数（回 / 頭 / 月）、費用対効果（（対策前の診療費 - 対策後の診療費） - TSV-2 費用）、TSV-2 投与時の農場内発症率を調査した。発症率はカイ 2 乗検定、診療回数は Mann-Whitney の U 検定、TSV-2 投与時の農場内発症率と費用対効果の関係は Pearson の積率相関係数を用いた。また R にてそれぞれの農場の発生時の診療回数を目的変数、TSV2 投与の有無、過去の診療回数を説明変数とした一般化線形モデル（負の二項回帰モデル）で解析した。危険率 5% 未満で有意差ありとした。

【結果】

本病での検出キットの BRSV 検出の感度は 0.52、特異度は 1.00 であった。各農場の発症率、診療回数、および費用対効果を表 3 に示した。発症率は 2 農場が有意に低下した（ $P < 0.05$ ）。診療回数は 5 農場が有意に低下し（ $P < 0.05$ ）、2 農場が有意に上昇した（ $P < 0.05$ ）。費用対効果は 9 農場が正となり、3 農場が負となった。TSV-2 投与時の農場内発症率と費用対効果には有意な負の相関が認められた（図 1、 $r = -0.71$ 、 $P < 0.01$ ）。一般化線形モデルの結果を表 4 に示した。TSV-2 投与の回帰係数推定値は 5 農場が負の値（ $P < 0.05$ ）、2 農場が正の値（ $P < 0.05$ ）となった。過去の診療回数の回帰係数推定値は 2 農場が正の値となった（ $P < 0.01$ ）。

【考察】

迅速診断として用いた検出キットは特異度が 1.00 であったことから呼吸器病が集団発生した

表3 各農場の発生状況、診療状況、費用対効果およびTSV-2投与時のBRSV病発症率

| 農場 | 群 | 発症率(%) | P値 | 診療回数(回/頭) | | 過去の診療回数(回/頭/月) | | 費用対効果(円) | TSV-2投与時のBRSV病発症率(%) |
|----|-----------|--------|----|------------|----|----------------|----|----------|----------------------|
| | | | | 診療回数(回/頭) | P値 | 過去の診療回数(回/頭/月) | P値 | | |
| A | 対策前(n=61) | 68.5 | † | 3 [0-8] | ** | 0.6 [0.0-2.5] | | 3,941 | 18.0 |
| | 対策後(n=73) | 52.5 | | 1 [0-3] | | 0.4 [0.0-1.0] | | | |
| B | 対策前(n=46) | 73.3 | * | 6 [0-8] | ** | 0.0 [0.0-0.0] | | 2,162 | 34.8 |
| | 対策後(n=45) | 47.8 | | 0 [0-3] | | 0.0 [0.0-0.3] | | | |
| C | 対策前(n=18) | 64.3 | † | 1 [0-3.5] | † | 0.0 [0.0-0.0] | | 787 | 22.2 |
| | 対策後(n=14) | 27.8 | | 0 [0-0.75] | | 0.0 [0.0-0.0] | | | |
| D | 対策前(n=32) | 51.2 | | 1 [0-4] | | 0.0 [0.0-0.0] | | 2,400 | 18.8 |
| | 対策後(n=41) | 31.3 | | 0 [0-1.25] | | 0.0 [0.0-0.0] | | | |
| E | 対策前(n=31) | 75.8 | | 3 [1-6] | | 0.2 [0.0-0.5] | | 988 | 41.9 |
| | 対策後(n=33) | 54.8 | | 1 [0-4] | | 0.0 [0.0-0.2] | | | |
| F | 対策前(n=21) | 68.4 | | 2 [0-3] | | 0.0 [0.0-0.0] | | 1,507 | 47.6 |
| | 対策後(n=19) | 57.1 | | 1 [0-1] | | 0.0 [0.0-0.0] | | | |
| G | 対策前(n=51) | 83.3 | | 1 [1-2] | | 0.0 [0.0-0.1] | | -4,770 | 70.6 |
| | 対策後(n=54) | 84.3 | | 2 [1-5] | | 0.0 [0.0-0.2] | | | |
| H | 対策前(n=39) | 51.2 | | 1 [0-4] | | 0.0 [0.0-0.0] | | -1,592 | 66.7 |
| | 対策後(n=41) | 66.7 | | 4 [0-5] | | 0.0 [0.0-0.0] | | | |
| I | 対策前(n=22) | 61.5 | | 5 [0-6] | | 0.0 [0.0-0.5] | | 192 | 50.0 |
| | 対策後(n=26) | 77.3 | | 4 [3-5] | | 0.0 [0.0-0.0] | | | |
| J | 対策前(n=48) | 68.3 | | 2.5 [0-6] | | 0.0 [0.0-0.3] | | 21 | 30.2 |
| | 対策後(n=60) | 62.5 | | 2 [0-4.25] | | 0.2 [0.0-0.6] | | | |
| K | 対策前(n=52) | 83.3 | ** | 1 [1-2] | | 0.0 [0.0-0.1] | | 505 | 11.5 |
| | 対策後(n=54) | 44.2 | | 0 [0-2] | | 0.0 [0.0-0.1] | | | |
| L | 対策前(n=54) | 54.1 | † | 1 [0-2] | * | 0.2 [0.0-0.6] | | -2,038 | 38.9 |
| | 対策後(n=61) | 72.2 | | 3 [0-7] | | 0.3 [0.0-0.7] | | | |

**: $p<0.01$, *: $p<0.05$, †: $p<0.1$

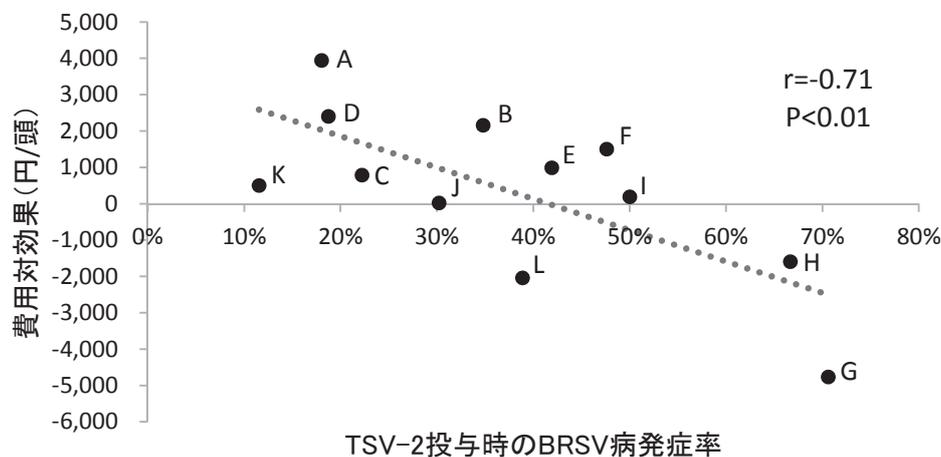


図1 TSV-2投与時のBRSV病発症率と費用対効果の関係

表4 一般化線形モデル

| 農場 | TSV2(因子) | | 過去の診療回数(回/頭/月) | |
|----|----------|----|----------------|----|
| | 回帰係数推定値 | P値 | 回帰係数推定値 | P値 |
| A | -0.64 | ** | 0.26 | ** |
| B | -1.13 | ** | 0.29 | ** |
| C | -0.97 | † | 5.05 | |
| D | -0.82 | * | 2.02 | |
| E | -0.43 | | 0.16 | |
| F | -1.26 | ** | -4.87 | |
| G | 0.92 | ** | 0.52 | |
| H | 0.44 | † | 1.21 | |
| I | 0.08 | | -0.12 | |
| J | -0.32 | | 0.34 | |
| K | -0.55 | * | 1.15 | |
| L | 0.46 | * | 0.7 | ** |

**: $p<0.01$, *: $p<0.05$, †: $p<0.1$

際の本病の診断ツールとして有効であると考えられた。これは人RSウイルス(HRSV)とBRSVは遺伝的、抗原的に相関性が高いこと[15]によるものと考えられた。

鼻腔粘膜ワクチンは投与後2～3日で鼻腔内

のインターフェロン γ (IFN γ)が検出されるとの報告がある[6]。今回、本病の発生が疑われTSV-2を投与することで発症率は2農場で低下、診療回数は6農場で低下し、費用対効果は9農場が正となった。これはTSV-2投与後

早期に IFN γ が誘導され抗ウイルス作用および BRSV 排除に重要な細胞性免疫 [12] の誘導が起こったことによるものと推察された。TSV-2 投与時の農場内発症率と費用対効果には有意な負の相関が認められたことから TSV-2 投与時の農場内発症率が低い、つまり、早期の TSV-2 投与であるほど効果が高いと考えられた。また、一般化線形モデルの結果から調査 1 と同様に過去の呼吸器病の診療回数も発生時の診療状況に影響を与えることがわかった。よって H、G の 2 農場は TSV-2 の投与が遅れたこと、L 農場は過去の呼吸器病の診療回数が多いことにより費用対効果が負になったと推察された。

以上より本病が疑われた際は検出キットで迅速診断し、早期の TSV-2 投与することは対策として有効性が高く、また調査 1 と同様に過去の診療回数は本病の診療回数に影響を与えると考えられた。

調査 3 気管支肺胞洗浄液を用いた病態把握と 鼻腔粘膜ワクチンおよびツラスロマイ シン同時投与の検討

調査 1、調査 2 により本病発症時には過去の呼吸器病の診療状況も影響を与えることがわかった。本調査では気管支肺胞洗浄を行い病態把握とツラスロマイシン投与の有効性を検討した。

【材料と方法】

供試農場

2017 年 10 月～2018 年 10 月に本病が発生した黒毛和種繁殖 6 農場を供試した。

病態把握

6 農場の発症子牛 21 頭において気管支肺胞洗浄 (BAL) を行った。回収した気管支肺胞洗浄液 (BALF) を用いて 21 頭で細菌の検索し、14 頭で総細胞数、マクロファージ数、リンパ球数、好中球数および死細胞数を測定した。BAL した時点での初診からの経過日数により 2 群に分類 (Early 群: 0～4 日、Late 群: 5～9 日) し比較を行った。統計解析は Mann-Whitney の U 検定を用い危険率 5% 未満で有意差ありとした。

鼻腔粘膜ワクチンおよびツラスロマイシン同時 投与の検討

2 農場 (A、B 農場) において検出キットで陽性判定後、即日未発症子牛 (22 頭、41 頭) を TSV-2 とツラスロマイシン (TM) を同時投与した群 (TM 群, 11 頭, 21 頭) と TSV-2 のみ投与した対照群 (11 頭, 20 頭) の 2 群にランダムに分類した。TM 群の 7 頭 (発症子牛: 5 頭、未発症子牛: 2 頭) の BALF から細菌を検索し、初診からの経過日数が 4 日以内の 9 頭 (TM 群: 3 頭、対照群: 6 頭) の BALF の免疫細胞数を測定し比較した。解析は Mann-Whitney の U 検定を用いた。また、発症頭数と過去の呼吸器病の診療回数を調査し、Cox 比例ハザードモデル (CPHM) で解析した。CPHM は調査を開始した日から 14 日間を観察期間とし、呼吸器病の発症をエンドポイント、TM 投与の有無、過去の診療回数、農場を説明変数とした。統計解析は危険率 5% 未満で有意差ありとした。

【結果】

病態把握

BALF の細菌検索の結果 (表 5)、2 頭から *P.multocida*、1 頭からレンサ球菌、6 頭から *M. bovis* が検出された。*P.multocida* が検出された 2 頭はいずれも初診からの経過日数が 0 日であった。*M. bovis* が検出された 6 頭のうち 5 頭の過去の診療回数は 6～10 回であった。また、*M. bovis* が検出された 3 頭は初診から 22～24 日目に 2 回目の BAL を行い 1 頭から *M. bovis* が検出された。BALF 中の細胞は Late 群と比較し (表 6) Early 群のマクロファージ比率が有意に低く ($P<0.05$)、好中球比率および死細胞比率が有意に高かった ($P<0.05$)。

鼻腔粘膜ワクチンおよびツラスロマイシン同時 投与の検討

TM 群の BALF の細菌検索の結果 (表 7)、1 頭から *M. bovis* が検出され過去の診療回数は 27 回であった。BALF 中の細胞は対照群と比較し (表 8) TM 群のマクロファージ比率が有意に高く ($P<0.05$)、好中球比率および死細胞比率が低い傾向にあった ($P<0.1$)。CPHM の結果、有意となったのは TM 投与有りであり

表5 BRSV病子牛の過去の診療回数とBALFの細菌検出結果

| No. | 初診からの経過日数(日) | 月齢 | 過去の診療回数(回) | 細菌 |
|-----|--------------|----|------------|---------------------------------------|
| 1 | 0 | 5 | 0 | <i>P. multocida</i> |
| 2 | 0 | 5 | 6 | <i>P. multocida</i> , <i>M. bovis</i> |
| 3 | 1 | 4 | 6 | <i>M. bovis</i> |
| 4 | 3 | 6 | 7 | <i>M. bovis</i> |
| 5 | 3 | 4 | 10 | <i>M. bovis</i> |
| 6 | 4 | 4 | 0 | - |
| 7 | 5 | 4 | 0 | - |
| 8 | 5 | 7 | 0 | - |
| 9 | 5 | 6 | 0 | - |
| 10 | 6 | 3 | 0 | レンサ球菌 |
| 11 | 6 | 5 | 0 | - |
| 12 | 6 | 5 | 0 | - |
| 13 | 6 | 7 | 0 | - |
| 14 | 6 | 8 | 0 | - |
| 15 | 6 | 5 | 0 | - |
| 16 | 7 | 9 | 1 | <i>M. bovis</i> |
| 17 | 9 | 5 | 0 | - |
| 18 | 9 | 5 | 0 | - |
| 19* | 22 | 5 | - | <i>M. bovis</i> |
| 20* | 24 | 6 | - | - |
| 21* | 24 | 5 | - | - |

*:No.19,20,21はそれぞれNo.3,4,5の2回目BAL

表6 初診からの経過日数によるBALF中の細胞の比較

| | 総細胞数($\times 10^5$ cell/ml) | マクロファージ(%) | リンパ球(%) | 好中球(%) | 死細胞(%) |
|--------------------|------------------------------|------------|------------|--------------|--------------|
| Early群 (n=6) | 6.8 (1.4-28) | 6 (4-7) * | 4 (3-7) † | 91 (87-93) * | 78 (48-80) * |
| Late群 (n=8) | 3.0 (1.8-4.7) | 27 (15-39) | 22 (11-28) | 44 (33-68) | 36 (39-44) |
| 健全子牛 ¹⁾ | 5.9 (4.5-8.0) | 97 (96-99) | 1 (1-2) | 1 (1-2) | ND |

1)引用文献[8] ND:No Data * : P<0.05, † : P<0.1(Late群と比較)、中央値(四分位範囲)

表7 TM群の過去の診療回数とBALFの細菌検出結果

| No. | 初診からの経過日数(日) | 月齢 | 過去の診療回数(回) | 細菌 |
|-----|--------------|----|------------|-----------------|
| 1 | 0 | 6 | 3 | - |
| 2 | 4 | 2 | 0 | - |
| 3 | 5 | 7 | 0 | - |
| 4 | 5 | 9 | 27 | <i>M. bovis</i> |
| 5 | 9 | 5 | 0 | - |
| 6 | 未発症 | 4 | 0 | - |
| 7 | 未発症 | 7 | 3 | - |

表8 TM群と対照群のBALF中の細胞の比較

| | 総細胞数($\times 10^5$ cell/ml) | マクロファージ(%) | リンパ球(%) | 好中球(%) | 死細胞(%) |
|-----------|------------------------------|--------------|------------|--------------|--------------|
| 対照群 (n=6) | 6.8 (1.4-28) | 6 (4-7) | 4 (3-7) | 91 (87-93) | 78 (48-80) |
| TM群 (n=3) | 1.2 (1.2-1.3) | 49 (38-57) * | 13 (10-22) | 41 (32-43) † | 28 (26-40) † |

* : P<0.05, † : P<0.1(対照群と比較)、中央値(四分位範囲)

ハザード比 (95%信頼区間) は 0.24 (0.12-0.52, P<0.001) であった。

【考察】

本病子牛においてBALを行った結果、BRSVと細菌が混合感染していることを確認できた。*P. multocida*が検出されたのはいずれもBALを初診日に行った子牛であり、これはBRSV感染細胞に*P. multocida*が接着しやすいこと [10] によるものと考えられた。*M. bovis*が検出された子牛は過去の呼吸器病の診療回数

の多い子牛であった。*M. bovis*感染後は長期治療しないと排除が困難 [1] であることを考えると本病発症前から*M. bovis*に感染していたと推察された。*M. bovis*は宿主の免疫抑制を引き起こすこと [16] から、調査1、2で得られた過去の診療回数の多い子牛が重篤化することは、*M. bovis*が関与していると考えられた。健全牛のBALF中の細胞は90%以上をマクロファージが占め、好中球は約1%である [9]。Early群では発症牛のBALF中の細胞は好中球が91%と著しく増加しており、気管支肺胞内

で激しい炎症反応が起こっていると推察された。これは Vluff らの報告 [17] と一致していた。マクロファージ比率の低下は好中球が浸潤したことによるものと考えられた。死細胞は BRSV 感染細胞やネクロシスした好中球と考えられその比率が高いことも激しい炎症反応が起こっていることを示唆した。本病の臨床症状は 5 日程度続く [14] ことから、Late 群では宿主の免疫応答が適切に働きはじめ好中球比率および死細胞比率が下がり、その結果マクロファージ比率が上がったと考えられた。

TM 群の BALF からは *M. bovis* 以外の細菌は検出されなかった。これは TM の 10～14 日間持続する抗菌作用によるものと考えられた。*M. bovis* が検出された子牛は過去の診療回数が 27 回と多く、すでに慢性化しており、TM を投与しても排除できなかったと考えられた。TM 群と対照群の BALF 中の細胞の比較では TM 群のマクロファージ比率が有意に高く、好中球比率および死細胞比率が低い傾向にあった。これは TM が好中球遊走に関わる IL-8 の転写阻害することおよび好中球のアポトーシスを誘導することによる抗炎症作用 [2] によるものと考えられた。

CPHM の結果から未発症子牛に TSV-2 と TM を同時投与することで TSV-2 の単独投与に比べ発症リスクを低下させることがわかった。これは本病子牛では気管支肺胞内で細菌感染がみられ、さらには好中球浸潤を中心とした激しい炎症反応が起こっていることを考えると、TM の長期間持続する抗菌作用および抗炎症作用が奏功したと考えられた。しかし、慢性呼吸器病では TM を投与しても *M. bovis* の完全排除は難しく本病が発生する前の呼吸器病のコントロールの重要性が示唆された。

【謝辞】

本調査をするにあたり気管支肺胞洗浄、細菌、ウイルス検索および細胞測定をして頂いた鹿児島大学共同獣医学部の石川真悟先生に深謝いたします。

【引用文献】

[1] Currin JF, Currin N, Whittier WD. 2005. Mycoplasma in Beef Cattle. Virginia Cooperative

Extension. Publication 400-304.

- [2] Fischer CD, Beatty JK, Zvaigzne CG, Morck DW, Lucas MJ, Buret AG. 2011. Anti-Inflammatory benefits of antibiotic-induced neutrophil apoptosis: tulathromycin induces caspase-3-dependent neutrophil programmed cell death and inhibits NF-kappaB signaling and CXCL8 transcription. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55: 338-348.
- [3] 藤井満貴, 富永潔, 平田浩一郎ら. 1990. 乳用子牛に集団発生した牛 RS ウイルス感染症, 日獣会誌. 43: 494-498.
- [4] 福山新一. 2008. 子牛の感染症予防ワクチンプログラム, 日本家畜臨床感染症研究会誌. 3: 79-84.
- [5] 播谷亮. 2017. 子牛の呼吸器疾患の病理, 家畜感染症学会誌. 6: 35-43.
- [6] M. Savan, A. B. Angulo, and J. B. Derbyshire. 1979. Interferon, Antibody Responses and Protection Induced by an Intranasal Infectious Bovine Rhinotracheitis Vaccine. *Can Vet J.* 20: 207-210.
- [7] 松田敬一. 2017. 呼吸器疾患の集団予防と個体治療. *臨床獣医*, 35 (10) 23-31.
- [8] 小浜菜美子, 久保田修一, 今泉好能ら: 黒毛和種子牛におけるウイルス性呼吸器病ワクチン接種プログラムの検討, 日獣会誌. 70: 605 (2017).
- [9] Ollivett TL, Caswell JL, Nydam DV, Duffield T, Leslie KE, Hewson J, Kelton D. 2015. Thoracic Ultrasonography and Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis in Holstein Calves with Subclinical Lung Lesions. *J Vet Intern Med.* 29: 172834.
- [10] Sudaryatma PE, Nakamura K, Mekata H, Sekiguchi S, Kubo M, Kobayashi I, Subangkit M, Goto Y, Okabayashi T. 2018. Bovine respiratory syncytial virus infection enhances *Pasteurella multocida* adherence on respiratory epithelial cells. *Vet. Microbiol.* 220: 33-38.
- [11] 高木順一, 日下部和彦, 中川高志ら. 2011. 黒毛和種肥育農場における牛 RS ウイルス感染症の発生と予防対策, 家畜診療. 58: 471-476.
- [12] Thomas LH, Cook RS, Howard CJ, Gaddum RM, Taylor G. 1996. Influence of selective T-lymphocyte depletion on the lung pathology of gnotobiotic calves and the distribution of different T-lymphocyte subsets following challenge with bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.* 61: 38-44.
- [13] Thomas LH, Cook RS, Wyld SG, Furze JM, Taylor G. 1998. Passive protection of gnotobiotic calves using monoclonal antibodies directed at different epitopes on the fusion protein of bovine respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.* 177: 874-880.
- [14] 坪井孝益. 2013. 牛 RS ウイルス病, 子牛の医学, 家畜感染症学会編, 第 1 版, 199-200, 緑書房,

東京.

- [15] Van der Poel WH1, Brand A, Kramps JA, Van Oirschot JT. 1994. Respiratory syncytial virus infections in human beings and in cattle. *J. Infect.* 29: 215-228.
- [16] Vanden Bush, TJ. Rosenbusch, RF. 2004. Characterization of a lympho-inhibitory peptide produced by *Mycoplasma bovis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 315: 336-341.
- [17] Vluff B, Tjornehoj K, Larsen LE, Rontved CM, Uttenthal A, Ronsholt L, Alexandersen S. 2002. Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Am. J. Pathol.* 161: 2195-207.
- [18] 渡辺大策, 田口桃子, 安藤貴明ら. 2009. 5種混合生ワクチンを追加接種した肥育牛における牛RSウイルス自然感染時の免疫応答と発症予防効果, 日本家畜臨床感染症研究会誌. 4, 9-18.

Measureas against bovine respiratory syncytial virus disease in calves considered by clinical veterinarian

Yuto Kano

North Veterinary Clinic, Kagoshima Prefecture Soo Agricultural Mutual Aid Association
899-8605 1980-3 Ninokata, Sueyosichou, Soo-shi, Kagoshima
Tel: 0986-76-1033, FAX: 0986-76-0387
E-mail: kano@nosai-soo.com

[Abstract]

About 80% of Japanese Black cattle multi-headed farm in the pipe has the outbreak of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) disease in which respiratory disease. Prevention based on the live-killed vaccine program (LK method) is most effective from this survey, and it was found that the medical condition of the disease affected by the age and medical condition of respiratory disease in the past. In addition, as a quick diagnosis on the clinical site, the diagnosis by the HRSV detection kit has high specificity, and early administration of the nasal mucosal vaccine (TSV-2) before the disease spreads in the farms using this kit is increased cost effectiveness. However, it was ineffective in calves with many treatments of respiratory diseases in the past. *P. multocida* and *M. bovis* were detected from the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of calves affected with this disease and mixed bacterial infection was confirmed. *M. bovis* was detected from calves that required much treatment in the past respiratory tract diseases. In these calves, *M. bovis* infection resulted in immunosuppression of the host, and it was considered that the LK method and early administration of TSV-2 was low effect. In the measurement of cell number in BALF, significant infiltration of neutrophils was observed in early onset. Simultaneous administration of TSV-2 and tulathromycin (TM) to non-infected calves reduced the risk of onset compared with TSV-2 alone administration. This was thought to be due to long-lasting antimicrobial and anti-inflammatory effects of TM. However, TM administration did not result in the complete elimination of *M. bovis* in calves that required much treatment of respiratory diseases in the past.

Keywords: bovine respiratory syncytial virus, HRSV detection kit, live-killed vaccine, nasal mucosal vaccine, tulathromycin