

黒毛和種子牛における *Histophilus somni* に対する 抗体価の推移

乙丸孝之介^{1)†}久保田修一²⁾兼重貴裕²⁾

1) 鹿児島大学共同獣医学部 (〒 890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24)

2) 株微生物化学研究所 (〒 611-0041 宇治市横島町 24-16)

(2017年12月22日受付・2018年2月14日受理)

要 約

黒毛和種子牛における *Histophilus somni* に対する抗体価を調査するため、3農場（それぞれA, B, C農場）で飼養されていた36頭（1農場12頭ずつ）の子牛を供試した。すべての供試牛から生後1, 4, 8, 12, 16及び20週齢で血液を採取し、*H. somni* に対する抗体価を測定した。その結果、3農場すべてにおいて、子牛の *H. somni* 抗体価は4週齢まで緩やかに低下し、その後徐々に上昇した。4週齢の子牛の抗体価は、A農場及びB農場では12, 16及び20週齢の抗体価と比較し有意に低値であり、C農場では20週齢の抗体価と比較し有意に低値であった ($P < 0.05$)。本研究で示された黒毛和種子牛の *H. somni* に対する抗体価の推移は、今後、子牛の呼吸器病予防対策の1つとして *H. somni* に対するワクチネーションプログラムを構築するうえでの一助となると考えられた。

—キーワード：抗体価, *Histophilus somni*, 黒毛和種子牛。

-----日獣会誌 71, 298~301 (2018)

Histophilus somni は健康牛の上部気道に常在し、髄膜脳脊髄脳炎や肺炎などさまざまな疾病を引き起こす [1, 2]。ワクチン接種が予防対策として行われているが、子牛の免疫応答は移行抗体の影響を受けるため [3, 4]、ワクチン接種適期を検討するうえで子牛の抗体価の推移を調査することはきわめて重要である。新生子牛は、母牛の初乳の摂取及び吸収により免疫を獲得するが、初乳中の免疫グロブリンの吸収は出生後24時間までといわれている [5]。また、出生子牛が獲得した移行抗体の半減期は、一般的に約2週間であるとされ、子牛の加齢とともに血液中の移行抗体の濃度は低下する [5]。*Mannheimia haemolytica* や *Pasteurella multocida* などの呼吸器病起因菌に対する子牛の抗体価の推移については、これまでヘレフォード種や交雑種子牛において、出生後、30~90日齢まで減少し、その後上昇したことが報告されている [6]。一方、*H. somni* に対する子牛の抗体価の推移については、カナダの肉用交雑種子牛において、2カ月齢あるいは4カ月齢まで減少し、その後上昇したという報告のみであり [7]、黒毛和種子牛についての報告並びに日本国内における報告も成されていない

い。本研究では、*H. somni* に対する黒毛和種子牛の抗体価の推移について調査した。

鹿児島県内の3つの農場（それぞれA, B, C農場）で飼養されていた黒毛和種子牛36頭、1農場当たり12頭の子牛を供試した。A農場及びB農場の子牛は出生後5日齢まで母牛と同居飼養され、その後母子分離されて10週齢まで人工哺乳にて飼養された。C農場の子牛は、出生後20週齢まで母牛と飼養された。すべての供試牛及びその母牛へ *H. somni* ワクチンはされていなかった。観察期間中、すべての供試牛において呼吸器病の発症はなく、臨床的に健康であった。また、すべての農場において供試牛以外の臨床的に健康な子牛の鼻腔スワブから *H. somni* が分離されていたが、供試牛における鼻腔スワブの検査はされていなかった。

供試牛は1週齢（7日齢）、4週齢（28~34日齢）、8週齢（56~62日齢）、12週齢（84~90日齢）、16週齢（112~118日齢）、20週齢（140~146日齢）に頸静脈より血清分離用真空採血管（ベノジェクトII VP-S100K, テルモ(株), 東京）を用いて採血された。採取した血液は遮光下で30分間常温に静置したのち、3,000rpmで20

† 連絡責任者：乙丸孝之介（鹿児島大学共同獣医学部）

〒 890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24

☎ 099-285-8750 FAX 099-285-8751

E-mail : otomaru@vet.kagoshima-u.ac.jp

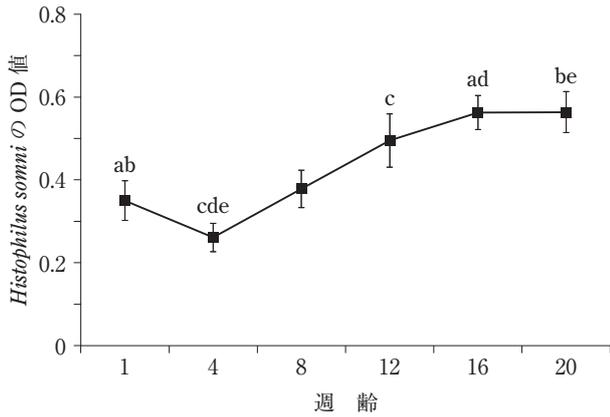


図1 A農場の *Histophilus somni* の抗体価の推移 (n=12)
 平均値±標準誤差
 同符号間に有意差あり (P<0.05)

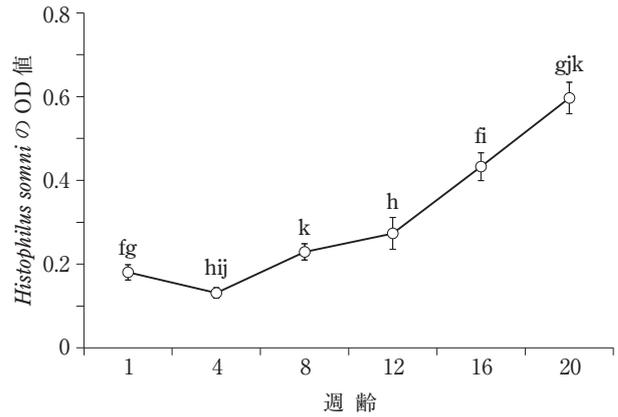


図2 B農場の *Histophilus somni* の抗体価の推移 (n=12)
 平均値±標準誤差
 同符号間に有意差あり (P<0.05)

分間遠心して血清を分離し、測定時まで-20℃に保存した。

H. somni 抗体価の測定は Canto ら [8] の方法を一部改変し、ELISA 法にて実施した。*H. somni* (M-1Br 株) をブレインハートインフュージョン培地にて 37℃ で 3 日間培養後、遠心分離により菌体を回収した。回収した菌体を生理食塩液に浮遊させ、遠心分離で菌体を洗浄後、ふたたび菌体を生理食塩液に浮遊させ、4℃で 24 時間攪拌した後、遠心分離で上清を回収した。その後、回収した上清を 0.22μm のメンブランフィルターでろ過し、炭酸緩衝液で希釈したものを ELISA 抗原とした。ELISA 抗原をマイクロタイタープレートの各ウェルに分注し、30℃で 2 時間固相化させ ELISA 抗原固相プレートとした。0.05% Tween20 添加リン酸緩衝液で抗原固相プレートを洗浄した後、市販のプロッキング剤 (ブロッケーア粉末, DS ファーマバイオメディカル株, 大阪) を添加し、4℃で 18 時間静置し、プロッキング処理を行った。被験血清は Tween20 添加リン酸緩衝液で 400 倍希釈して用いた。抗原固相プレートに希釈した血清を各ウェル 100μl 添加し、30℃で 1 時間感作させた。プレート洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ウシ IgG 抗体 (Cappel Laboratories, U.S.A.) を添加し、30℃で 30 分間感作させた。反応後プレートを洗浄し、発色液を全ウェルに添加後、30℃で 30 分の感作を行い、反応停止液を全ウェルに添加した。主波長 492nm 及び副波長 630nm で吸光度 (Optical Density) を測定し、測定した主波長の測定値から副波長の測定値を差分した値を OD 値とした。

各農場の子牛の抗体価は、週齢ごとに平均±標準誤差で示した。各週齢の抗体価の比較は一元配置分散分析を行い、有意な差を認めた場合には Tukey-Kramer 法により検定した。いずれも 5% 未満の危険率を有意な差とした。統計解析には市販のソフト (SPSS Statistics 24,

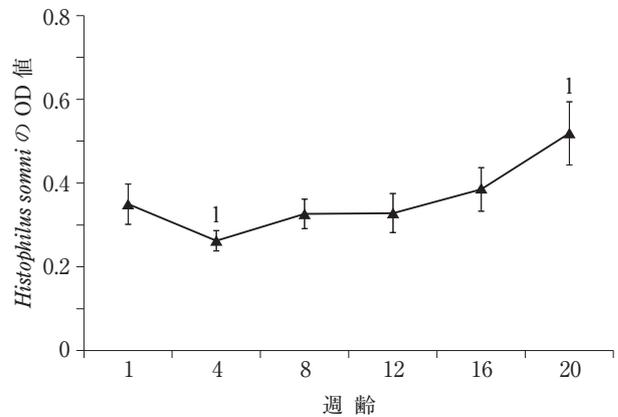


図3 C農場の *Histophilus somni* の抗体価の推移 (n=12)
 平均値±標準誤差
 同符号間に有意差あり (P<0.05)

日本 IBM (株, 東京) を用いた。

図 1~3 に各農場の子牛の抗体価の推移を示した。各農場の子牛の *H. somni* に対する抗体価はそれぞれ 4 週齢まで減少し、4 週から 20 週にかけて徐々に上昇した。4 週齢子牛の *H. somni* に対する抗体価は、A 農場及び B 農場の子牛では 12、16 及び 20 週齢の抗体価と比較し有意に低値であり、C 農場の子牛では 20 週齢の抗体価と比較し有意に低値であった (P<0.05)。

牛呼吸器病は、多くの肉用牛農場でみられ、経済的損失は非常に大きい [2, 9]。 *H. somni* は牛呼吸器病の主要な原因菌の 1 つと考えられており、重要な生産性阻害要因となっている [1, 2]。牛呼吸器病の治療には一般的に抗菌剤が使用されているが、近年、抗菌剤の慎重使用が提唱されている [10]。そのため、牛呼吸器病の予防には、ワクチネーションが有用な対策の 1 つであるが [11]、ワクチネーションによる子牛の免疫応答は、移行抗体の存在の影響を受けるため、子牛への理想的なワクチネーションの実施時期は、移行抗体の影響が少ない

時期であるとされている [3, 4]. 生産農場で飼養される黒毛和種子牛は、通常8~10カ月齢で競り市に上場されるが、多くの地域において子牛の競り市上場の条件として、*H. somni* ワクチンの接種が義務付けられている。そのため、黒毛和種子牛は競り市上場の約1~2カ月前、すなわち6~9カ月齢で *H. somni* ワクチンを接種されることが多い。本研究で調査した3農場の子牛の *H. somni* に対する抗体価は、いずれも4週齢まで減少し、4~20週齢にかけて徐々に上昇したが、この抗体価上昇の要因として、供試農場の子牛の鼻腔スワブから *H. somni* が分離されているため、農場内で *H. somni* に自然感染したためであると考えられた。*H. somni* の関与する牛呼吸器病の流行時期は、地域や農場によって異なるため、*H. somni* ワクチンの接種適期を一概に規定することはできないが、本研究の結果から、黒毛和種子牛における *H. somni* ワクチンの接種は抗体価の最も減少した時期である4週齢前後で行うのが望ましいと考えられた。

本研究における調査農場数及び調査頭数などは、限定された条件ではあったが、本研究の結果は、今後、子牛の呼吸器病予防対策の1つとして *H. somni* に対するワクチネーションプログラムを構築するうえでの一助となると考えられた。

引用文献

- [1] 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)
- [2] Frederick WH, Eugene DJ : The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): A review, *Can Vet J*, 30, 816-822 (1989)
- [3] Woolums AR, Berghaus RD, Berghaus LJ, Ellis RW, Pence ME, Saliki JT, Hurley KA, Galland KL, Burdett WW, Nordstrom ST, Hurley DJ : Effect of calf age and administration route of initial multivalent modified-live virus vaccine on humoral and cell-mediated immune responses following subsequent administration of a booster vaccination at weaning in beef calves, *Am J Vet Res*, 74, 343-354 (2013)
- [4] Nonnecke BJ, Waters WR, Goff JP, Foote MR : Adaptive immunity in the colostrum-deprived calf: response to early vaccination with *Mycobacterium bovis* strain bacille Calmette Guerin and ovalbumin, *J Dairy Sci*, 95, 221-239 (2012)
- [5] Barrington GM, Parish PM : Bovine neonatal immunology, *Vet Clin N Am-Food A*, 17, 463-476 (2001)
- [6] Prado ME, Prado TM, Payton M, Confer AW : Maternally and naturally acquired antibodies to *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in beef calves, *Vet Immunol Immunop*, 111, 301-307 (2006)
- [7] Van Donkersgoed J, Guenther C, Evans BN, Potter AA, Harland RJ : Effects of various vaccination protocols on passive and active immunity to *Pasteurella haemolytica* and *Haemophilus somnus* in beef calves, *Can Vet J*, 36, 424-429 (1995)
- [8] Canto J, Biberstein EL, Schulte TA, Behymer D : Cross-reactivity of *Haemophilus somnus* antibody in agglutination and complement fixation tests and in the enzyme-linked immunosorbent assay, *J Clin Microbiol*, 17, 500-506 (1983)
- [9] Snowden GD, Van Vleck LD, Cundiff LV, Bennett GL : Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic, and economic factors, *J Anim Sci*, 84, 1999-2008 (2006)
- [10] 田村 豊 : 動物用抗菌剤の使用動向と薬剤耐性菌対策—特に診療獣医師の果たす役割について, *日獣会誌*, 56, 685-691 (2003)
- [11] 乙丸孝之介, 久保田 整, 大塚浩通, 安藤貴朗, 小岩政照 : 黒毛和種導入子牛に対する *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* 混合不活化ワクチンの呼吸器病予防効果, *日獣会誌*, 65, 767-770 (2012)

Maternally and Naturally Acquired Antibodies to *Histophilus somni*
in Japanese Black Calves

Konosuke OTOMARU^{1)†}, Shuichi KUBOTA²⁾ and Takahiro KANESHIGE²⁾

1) Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan

2) Kyoto Biken Laboratories, Department of Veterinary Medicine, 24-16 Magishima, Uji, 611-0041, Japan

SUMMARY

We investigated the sequential changes of serum antibody titers against *Histophilus somni* in Japanese Black calves. Thirty-six unvaccinated calves from three Japanese Black breeding farms in Japan were studied. Blood samples were obtained from all calves at 1, 4, 8, 12, 16 and 20 weeks after birth. As a result, antibody titers against *H. somni* in calves decreased by 4 weeks of age, followed by a gradual increase during the study period in three groups. The antibody titers against *H. somni* at 4 weeks of age were significantly lower than those at 12, 16 and 20 weeks of age at Farm A and B, and at 20 weeks of age at Farm C ($P < 0.05$). These results might provide useful information for designing a vaccination program to prevent *H. somni* in Japanese Black calves.

— Key words : antibody titer, *Histophilus somni*, Japanese Black calf.

† Correspondence to : Konosuke OTOMARU (Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University)

1-21-24 Korimoto, Kagoshima, 890-0065, Japan

TEL 099-285-8750 FAX 099-285-8751 E-mail : otomaru@vet.kagoshima-u.ac.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 71, 298 ~ 301 (2018)