

牛の伝染性角結膜炎(ピンクアイ)の発生に おけるハエ類の関与に関する研究

岩 佐 光 啓

畜産環境科学科生態系保護学講座

1. 目 的

牛の伝染性角結膜炎は、*Moraxella bovis* を病原体とする牛の眼疾患の1つで、特に放牧の時期に流行することから牧野衛生上重要な伝染病となっている。本病の発生は、春先に始まり、放牧期間中続き、流行が集団的であることから、その伝播には牛の外部寄生性ハエ類が関与している疑いもたれてきた。しかし、日本では本病の流行、伝播および媒介昆虫の種類や役割については不明な点が多い。そこで本研究では、牛の外部寄生性ハエ類の発生と本病との関係を明らかにし、牛の眼の拭い液および眼の周辺に集まるハエ類からの *M. bovis* の分離を試み、ハエ類の媒介昆虫としての役割を検討することを目的とした。

2. 方 法

(1) 調査地および調査期間

調査は1991年5月下旬から10月中旬までの間、帯広市街から南西に約35kmのところにある帯広市八千代公共育成牧場において行った。放牧牛は6つの群に分かれており、第1群は妊娠群(18-24カ月)、第2群および第3群は授精群(14-24カ月)、第4群および第5群は授精予備群(10-14カ月)、第6群は若令群(10カ月前後)となっていた。

(2) ハエ類防除とピンクアイ発生との関係

調査期間中、薬剤処理区としてバイチコール(ピレスロイド系：フルメトリン)を第2群、第4群および第5群において、放牧牛の背中線にそって頭部から尾部までポアオン用簡易施用器具を用いておよそ月1回の割合で施用した。また第6群には、1991年5月27日にイヤータッグ(ヤシマペルタック：ピレスロイド系パーメスリン)を放牧牛の両耳に取り付けた。残りの第1群および第3群を薬剤処理を行わない対照区とし、ピンクアイの発症数をそれぞれ群ごとに随時記録した。またそれぞれの群で、放牧牛10-20頭を任意に選び、調査期間中約10日に1回の割合で、それらの牛の顔面部に寄生するハエ類の数を数えた。調査時刻はハエの活動が最も盛んと思われる午前10時から午後2時までの間とした。

(3) 牛の眼からの *M. bovis* の分離と同定

調査期間中、ピンクアイが発症した牛の両眼の結膜、涙などを滅菌綿棒で拭い、滅菌プラスチック管に入れ、研究室に持ち帰った。本菌の分離には、羊の血液を5%添加したプレインハートインフ

ユージョン寒天培地を用い、37°C、24時間培養した。スタンダード株として同条件で培養した *M. bovis* (むつ系) を用いた。*M. bovis* の同定は、根本ら (1978) に従い、コロニーの形態、グラム染色、生化学的性状、試験管内凝集反応および SDS ポリアクリルアミド電気泳動による菌体蛋白像を総合して行った。

a) コロニー形態および溶血性

羊の血液を 5% 添加したプレインハートインフュージョン寒天培地で 37°C、24 時間培養後に観察した。

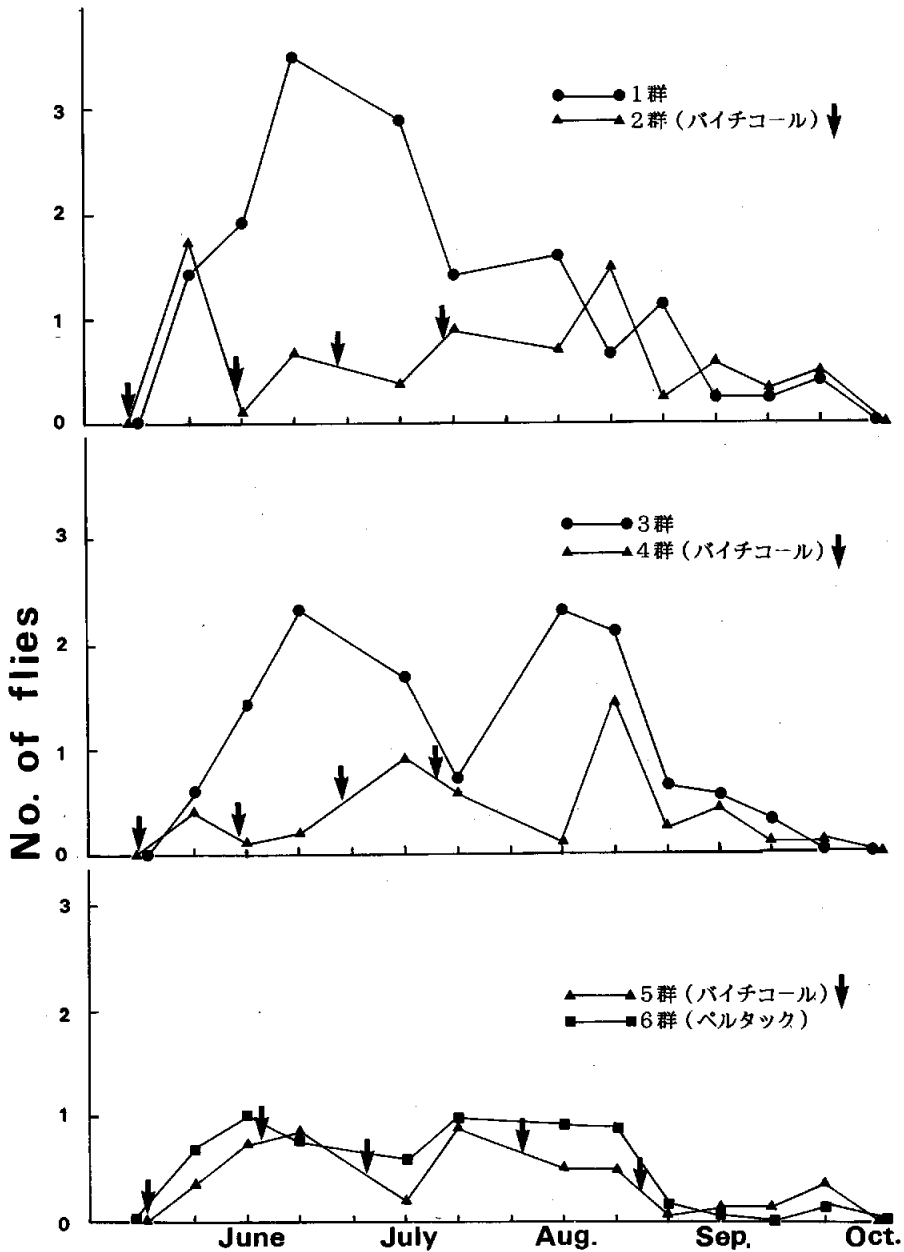


図1. 牛体に寄生するクロイエバエの季節消長

b) グラム染色

血液寒天培地上で培養後、Hucker 変法により行った。

c) 生化学的性状

オキシダーゼ反応：血液寒天培地上で培養した菌株をチトクロームデスク（栄研）に塗布し、検査した。

カタラーゼ反応：血液寒天培地上で培養した菌株を白金線で少量取り、小試験管に高層に固めた SIM 培地に穿刺し、37°C、24 時間培養後スタンダード株のものと比較観察した。

ブドウ糖、乳糖およびショ糖：血液寒天培地上で培養した菌株を白金線で少量取り、小試験管に高層斜面にした TSI 培地にまず斜面に塗抹し、次いで高層部に穿刺し、37°C、24 時間で培養後、スタンダード株のものと比較観察した。

d) 抗血清の作製と試験管内凝集反応

抗原は、血液寒天培地上で 37°C、24 時間培養した *M. bovis* (むつ系) を 10 ml の生理的食塩水に懸濁し、100°C の温水中で 2 時間加熱し、死菌後防腐剤としてホルマリンを最終濃度 0.5% に加えて作製した。抗原液は、健康なウサギに 1 週間おきに 4 回に分けて静注し、抗体価が上がっているのを確かめた後すべて採血し、血清を採取した。試験管内凝集反応は、血清を滅菌生理食塩水で 200、400、800、1600 倍に希釈したもの 1 ml に、調べる菌を滅菌生理食塩水に懸濁したものを 0.1 ml 加えて、2、4、8 時間培養後に凝集の有無をもって判定した。対照として滅菌生理食塩水 1 ml に菌の懸濁液 0.1 ml を加えたものを用いた。

e) SDS ポリアクリルアミド電気泳動法による菌体蛋白像

血液寒天培地上で 24 時間培養した各菌株を白金耳で適量かき取り、ブレインハートインフュージョン液体培地 5 ml に入れて 37°C、24 時間培養した。この培養液を遠心分離して菌体のペレットを得た。これにサンプリングバッファーを加えて 3 分間煮沸後、12.5% SDS ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動を行い、菌体蛋白像を検索した。

(4) ハエ類からの *M. bovis* の分離

対照区と薬剤処理区それぞれにおいて、牛の顔面部から捕虫網で採集したハエ類を滅菌試験管に 5 頭ずつ入れて研究室に持ち帰り、炭酸ガスで麻酔した後、血液寒天培地上に置き、培地上を 5 分間歩かせた。その寒天培地を 37°C、24 時間培養しハエからの *M. bovis* の分離を試みた。

3. 結 果

(1) ハエ類防除とピンクアイ発生との関係

各牛群における月別のピンクアイ発生率を表 1 に示した。ピンクアイの発生率は薬剤処理区のうち、第 2 群、第 3 群および第 5 群では対照区より低い値を示したが、第 6 群では 38% と高かった。また、対照区のうち第 1 群ではやや低い値を示した。6 つの群のうち 3 つの群で発生のピークは 7 月にみられ、全体でみても 7 月の発生が最も多かった。全体の発生率は 10.5% であった。

(2) 牛体に集まるハエの季節消長

調査期間中、牛の顔面部に集まるハエはクロイエバエ (*Musca bezzii* Patton et Cragg) 1 種であ

表1. 各牛群における月別のピンクアイ発生率 (%)

牛群 処理, 対照区の別	5月	6月	7月	8月	9月	10月	計
第1群 対照区 (妊娠群: 18-24カ月)	0	0.3	0.3	0.7	0.7	0	2.3
第2群 バイチコール (授精群: 14-18カ月)	0	1.1	0.3	0	0	0	1.5
第3群 対照区 (授精群: 14-18カ月)	0	2.0	5.4	1.6	0	0.4	9.6
第4群 バイチコール (授精子備群: 10-14カ月)	0	0	0.5	0	0	0	0.5
第5群 バイチコール (授精子備群: 10-14カ月)	0	2.4	4.4	3.9	0	0.4	1.4
第6群 イヤータグ (若令群: 10カ月)	0	1.2	17.1	12.5	5.0	2.0	38.0
計	0	1.2	4.7	3.1	1.0	0.5	10.5

表2. 各牛群におけるピンクアイ発症牛の眼からの *M. bovis* の分離数
(*M. bovis* の分離数/検査した牛の頭数)

牛群 処理, 対照区の別	8月	9月	10月	計
第1群 対照区 (妊娠群: 18-24カ月)	0/2	0/3	0/0	0/5
第2群 バイチコール (授精群: 14-18カ月)	0/0	0/0	0/0	0/0
第3群 対照区 (授精群: 14-18カ月)	0/3	0/0	0/0	0/3
第4群 バイチコール (授精子備群: 10-14カ月)	0/0	0/0	0/0	0/0
第5群 バイチコール (授精子備群: 10-14カ月)	1/4	0/0	0/1	1/5
第6群 イヤータグ (若令群: 10カ月)	2/14	0/8	0/2	2/24
計	3/23	0/11	0/3	3/37

表3. 八千代牧場における過去6年間のピンクアイの群別発生数

	第1群	第2群	第3群	第4群	第5群	第6群	計
1986	2	11	10	27	72	35	157
1987	11	31	38	25	128	108	341
1988	0	7	4	8	114	115	248
1989	13	25	42	38	*3	113	234
1990	16	100	27	38	**6	**65	252
1991	6	*4	23	*1	*23	**91	148

* バイチコール施用 ** イヤータグ装着

った。クロイエバエの季節消長を図1に示した。図からも明らかなように、クロイエバエの寄生数は、対照区の第1群、第3群とも6月下旬に高い値を示し、8月上旬・中旬まで大体において薬剤処理区(第2群、第4群)よりも多く推移した。薬剤処理区ではあまり増減はなく、期間を通して少なく推移した。第5群(バイチコール施用)と第6群(イヤータグ装着)との間にはほとんど有意

な差はみられなかった。薬剤処理区におけるハエの数は、総合的に対照区より58%の減少がみられた。

(3) 牛の眼からの *M. bovis* の分離と同定

牛の眼からの *M. bovis* の分離の結果を表2に示した。ピンクアイ発症牛37頭から眼の拭い液を採取することができ、そのうち生化学的性状などにより8月に3頭の牛から *M. bovis* を分離することができた。分離率は、8.1%であった。分離できた牛は3頭とも1歳前後の子牛であった。

(4) クロイエバエ成虫からの *M. bovis* の分離

薬剤処理区と対照区において牛の顔面部から採集したクロイエバエ成虫を51プール(計153頭)に分けて培地上を歩かせたが、菌の分離はできなかった。

4. 考 察

薬剤処理区におけるクロイエバエの数は、対照区より少なく、58%の減少がみられたことは、バイチコールおよびイヤータッグによるハエ類への薬剤防除の効果があったことを示していると思われる。第5群と第6群のハエの季節消長は、有意な差がみられないことから、バイチコールとイヤータッグの間には殺虫効果の差はないと思われる。今回の調査で、第6群を除いた薬剤処理におけるピンクアイの発生率が対照区より低い値となったことは、牛の顔に寄生するハエの数が多くなればピンクアイの発生率も高くなるという報告と一致する。また、八千代牧場における過去6年間のピンクアイ発生数(表4)をみると、1989年にバイチコールを施用した第5群ではピンクアイの発生数は前年よりも激減したことが分かる。1990年には第5群と第6群にイヤータッグを装着したところピンクアイ発生数は第5群で引き続き低い値を示し、第6群では前年より約半分に減少した。このことから薬剤によるハエの防除がピンクアイ発生の減少に深く関与していると考えられる。Pugh and Huges (1975) は、子牛がピンクアイに感染しやすいと報告している。今回の調査で若令群である第6群が薬剤処理区であるにもかかわらずピンクアイの発生率が高い値を示し、また過去5年間においても第6群(若令群)で最も多く発生した。このように第6群のピンクアイ発生率の高い原因は、本疾病に対する子牛の感受性の高さにあると推測される。Webber (1982) は選択培地を用いて発症牛からの *M. bovis* の分離を試み、その分離率が28.6%だったことを報告した。今回菌の分離率が8.1%と低い値だったのは、分離方法が確立されていないことも一つの原因と思われる。ハエからの菌の分離ができなかったのも同様の理由が考えられる。北米においてはクロイエバエと近縁種で生態の似ている *Musca autumnalis* DeGeer がピンクアイを伝播することが知られている。従って今回の調査地においては、クロイエバエがピンクアイの発生に少なからず関与していることが示唆される。