

牛ウイルス性下痢粘膜病発生農場での持続感染牛(PI牛)摘発事例

家畜衛生試験場 ○丹羽 毅、池宮城 一文
八重山家畜保健衛生所 新田 芳樹

牛ウイルス性下痢粘膜病(BVD-MD)は、呼吸器症状や下痢、流死産、ウイルスを排出し続ける持続感染牛(PI牛)の存在など、その多様な病態から、畜産経営に多大な損失を与える重要な慢性疾病である。さらに、口蹄疫との類症鑑別疾病でもあることから、本疾病の防除および診断の重要性は増している。今回、本県で初めて牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)2型の流行を確認し、PI牛を摘発するとともに、非PI牛のBVDVによる難治性下痢の発症を確認したので報告する。(図1、図2)

同農場で成牛ならびに育成牛に間歇的な下痢が発生し、再度病性鑑定を実施した。農場内におけるPI牛の存在を疑い、翌年2月に全頭検査を実施した。また、ウイルス流行時の妊娠牛を対象として、新たに生まれるPI牛摘発のため、6月より新生子牛のスクリーニング検査を開始した。また、スクリーニング検査中に発症した難治性下痢の育成牛についても病性鑑定を実施した。(表1)

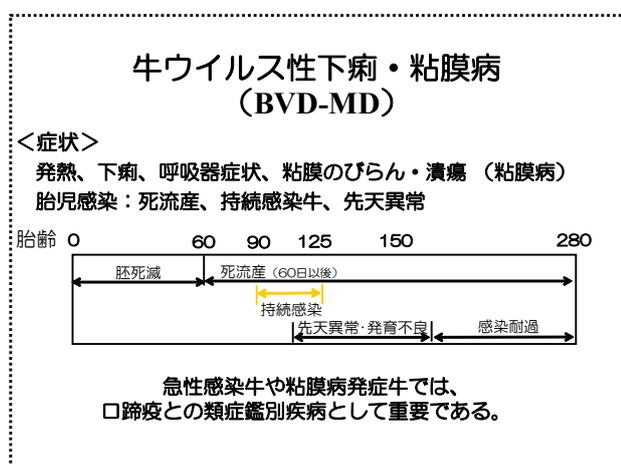


図1 牛ウイルス性下痢・粘膜病の概要

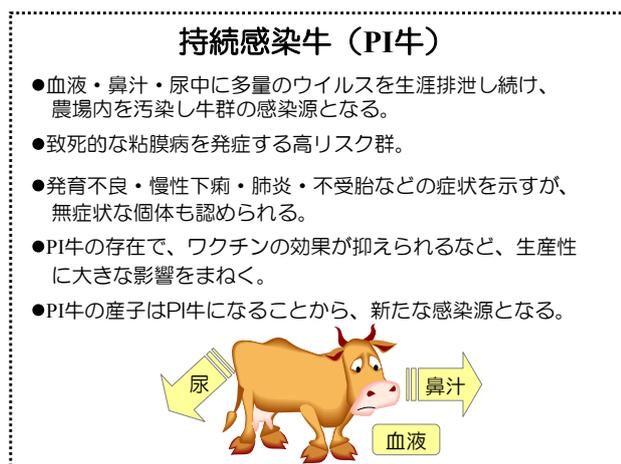


図2 持続感染牛(PI牛)の概要

【発生農場概要および経過】

平成22年10月、石垣市の母牛65頭規模の和牛繁殖農家で、哺乳・育成牛を中心に呼吸器症状および下痢が発生し、病性鑑定を実施した。同年12月、

本事例の流れ	
石垣市 肉用牛繁殖農家(母牛65頭規模)	
2010年	
10月21日	哺乳牛・育成牛で呼吸器症状および下痢を呈し、病性鑑定⇒BVD-MDと診断 経過1
12月15日	成牛等で下痢を呈し病性鑑定⇒BVD-MDと診断 経過2
12月22日	同上
2011年	
2月8日	農場内におけるPI牛の存在を疑い全頭検査し、PI牛の存在を否定 経過3
6月21日	ウイルス流行時期の妊娠牛より、PI牛発生を考慮した新生子牛のスクリーニング検査を開始し、PI牛等を摘発 経過4

表1 本事例の流れ

【材料と方法】

- 1) 病性鑑定: 下痢・呼吸器症状の集団発生事例については、ウイルス関連抗体検査ならびに下痢便を用いたRT-PCRを実施した。難治性下痢を呈した子牛については、ウイルス検査に加え、病理組織検査ならびにBVDVの免疫組織学的検査も実施した。
- 2) PI牛摘発全頭検査: 血清を用い、BVDVのRT-PCR¹⁾ならびに抗体検査をおこなった。
- 3) 新生子牛のスクリーニング検査: 分娩後2週間前後に子牛の採血を行い、抹消白血球を用いてRT-PCRならびに抗体検査を実施した。
- 4) ウイルス分離ならびに分離株の解析: PCR陽性の検体については、MDBK-SY細胞を用いてウイルス分離を行い、分離ウイルスはBVDV CP株を用いた干渉法およびBVDV RT-PCRにより同定した後、生物型(CP/NCP)の特定と、5'非翻訳領域における遺伝子解析を実施した。

【結果】

10月ならびに12月の下痢・呼吸器症状の集団発生は、抗体検査の結果、BVDV 2型によるBVDと診断した。(図3、図4)

経過1 2010年10月21日 哺乳牛での発熱・呼吸器症状、育成牛での発熱・下痢等

<病性鑑定> 哺乳牛・育成牛 計5頭

◇ウイルス検査

1) 抗体検査:

	RS		IBR		BVD1		BVD2	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
No.1	32	16	<2	<2	<2	128	<2	1024
No.2	2	4	<2	<2	<2	16	<2	32
No.3	2	2	<2	<2	<2	8	2	1024
No.4	2	<2	<2	<2	<2	4	32	512
No.5	<2	<2	<2	<2	<2	8	128	2048

2) 抗原検査
材料：鼻腔拭子・糞便
・RSV RT-PCR (-)・BCV RT-PCR (-)
・ロタ・アデノ簡易キット (-)

◇一般細菌検査：有意菌分離 (-)
◇クリプトスポリジウム簡易キット (-)
◇虫卵検査 線虫卵陽性 (2/5)

牛ウイルス性下痢・粘膜病(2型)と診断

図3 10月時の病性鑑定結果

経過2

2010年12月15日 成牛の発熱・下痢等
12月22日 育成牛・成牛での発熱・下痢等

<病性鑑定> 12/15 成牛 4頭 12/22 育成牛・成牛 4頭

◇ウイルス検査:

1) 抗体検査: BVD2型

2) 抗原検査 材料: 血清・糞便
・BVDV RT-PCR 陽性 (糞便: 1/12)
・BCV RT-PCR (-)
・ウイルス分離 (-)
※ BVDV感受性細胞使用

◇一般細菌検査: 有意菌分離なし
◇虫卵検査: 陽性 (線虫卵 1/8, 肝蛭卵 3/8)

	BVD2	
	pre	post
12月15日 成牛1	4096 ≤	4096 ≤
成牛2	1024	4096 ≤
成牛3	256	4096 ≤
成牛4	8	4096 ≤
12月22日 育成牛1	4096 ≤	4096 ≤
育成牛2	1024	4096 ≤
成牛3	128	4096 ≤
成牛4	512	4096 ≤

牛ウイルス性下痢・粘膜病(2型)と診断

図4 12月時の病性鑑定結果

経過3

<全頭検査> 病性鑑定牛を除く全70頭

◇ウイルス検査:
抗体検査: BVD2型
陽性55頭 (78.6%) 陰性15頭
※抗体価8倍以下のものについて、抗原検査を実施

抗原検査 材料: 血清 15検体 (抗体陰性のもの)
・BVDV RT-PCR (-)

※若齢仔牛については、移行抗体を考慮し、後日抹消血白血球より、RT-PCRを実施

PI牛の存在は、否定

図5 PI牛摘発のための全頭検査

PI牛摘発のために実施した全頭検査はいずれも陰

性で、農場内にPI牛は確認されなかった。(図5)

新生子牛のスクリーニング検査では、2頭からBVDVの特異遺伝子が検出され、BVDVが分離された。BVDVが検出された2頭はいずれも初回検査で抗原が確認され、1頭は3週間後の検査でも同様の結果であったことから、PI牛と確定された。1頭は事故死により追加採材ができず、確定に至らなかった。(図6)

経過4

<新生子牛スクリーニング検査> 5月下旬以降 計13頭

◇ウイルス検査:
抗原検査 材料: 抹消血単核球 (PBMC)
・BVDV RT-PCR 陽性 (2/13)
※陽性のものについて、中和抗体検査・ウイルス分離を実施

・抗体検査: BVD2型 抗体価 <2~8
・ウイルス分離: 陽性 (2/2) (BVDV感受性細胞)
・ウイルス同定: 干渉法および遺伝子検査

PI牛およびPI疑い牛と診断 (各1頭)

※同時期に難治性下痢を呈した育成牛からもウイルスを分離し、BVD-MDと診断

図6 新生子牛スクリーニング検査結果

同時期、農場内の育成牛1頭が難治性下痢を呈し、抹消血単核球よりBVDVが分離された。鑑定殺時に行った検査では、抹消血よりBVDVは検出されず、BVDV2型に対する抗体価の有意上昇が確認され、PIは否定された。病理組織学的検査では、パイエル板壊死と陰窩ヘルニアを伴う腸炎が確認されたことから、本症例をBVD・MDの急性型と診断した。(図7)

スクリーニング中に摘発された難治性下痢症例

2010年7月6日 PI陰性確認済みの育成牛が難治性下痢を呈し、病性鑑定
7月20日 畜主の意向により、鑑定殺

<病性鑑定> 育成牛11カ月齢

◇ウイルス検査:

	BVD2		
	10/26	11/10	7/20
1) 抗体検査: BVD2型	<2	32	4096 ≤

2) 抗原検査 材料: 7/6 抹消血単核球 7/20 臓器 (脳・脾等)
・BVDV RT-PCR 7/6 (+) 7/20 (-)
・ウイルス分離 7/6 (+)
※ BVDV感受性細胞使用

◇一般細菌検査: 有意菌分離なし
◇病理組織検査: パイエル板壊死と陰窩ヘルニアを伴う腸炎等

牛ウイルス性下痢・粘膜病(2型)の急性型

図7 難治性下痢症状を呈した育成牛の検査結果

分離株の性状解析の結果、いずれの株も生物型はNCP型、遺伝子型は2a型に分類された。(図8)

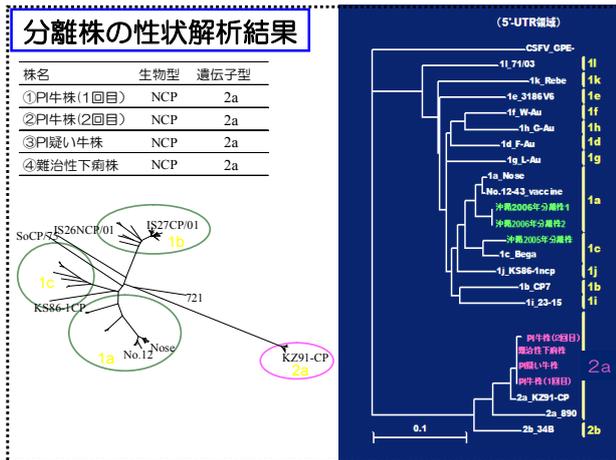


図8 分離株の性状解析結果

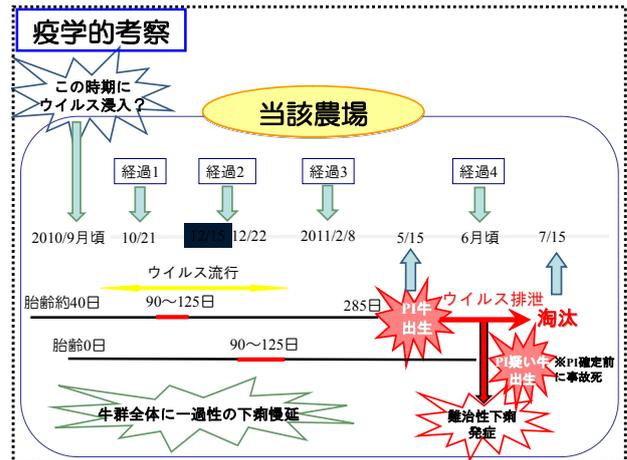


図9 疫学的考察

【まとめ】

本事例に対する疫学的考察では、農場の導入歴は、ウイルス流行前の9月ごろに1頭導入が確認されているが、当該牛は12月の検査で抗体価4096倍以上であったことから、PIの可能性は否定されている。当該牛が急性感染牛としてウイルスを持ち込んだ可能性は否定できないが、成牛等での集団下痢の発生や、農場内の75%を超える高い抗体保有率などから、農場内にPI牛が存在した可能性が強く疑われた。PI牛摘発のための全頭検査ではPI牛の存在が確認されなかったが、全頭検査前に本農場から転出された可能性も残っており、明確なウイルス侵入経路は不明であった。一方、新生子牛のPIおよびPI疑い牛の発生は、ウイルス流行時期と胎齢が一致しており、妊娠牛が暴露したことによって引き起こされたと推察された。急性感染の症状を呈した育成牛については、PI牛が生まれた時期に一致したため、PI牛の関与が強く疑われた。最後に、過去に行われたBVDV浸潤状況調査では、県内の流行はBVDV1型が主流であった²⁾が、今回の症例ではBVDV2型によるものであった。また、一般に成牛へのBVDV感染は不顕性あるいは軽度で経過するとされてきたが、今回、成牛にも下痢が蔓延し、また急性感染による淘汰が確認されたことは注視に値する。発生農場においては、新生仔牛の淘汰および農場全体におよぶ下痢等の発生により、経済的損失は甚大なものであったことから、引き続き本農場の清浄化に取り組むと共に、今後、BVDVの流行確認時には、早期に積極的なPI牛摘発に努める必要があると考える。(図9、図10)

まとめ

- ・ 県内で初めてBVDV（2型）の流行を確認。分離株は2a型に属していた。
- ・ 追跡調査から、県内で初めてPI牛が確定された。
- ・ PI牛の発生により、育成牛に難治性下痢が発症した可能性が示唆された。
- ・ BVDV侵入経路については、不明であった。

図10 まとめ

謝辞：BVDV分子系統樹解析をして頂いた動物衛生研究所 亀山 健一郎先生に深謝致します。

【参考文献】

- 1) Vilcek, S. et al. Arch. Virol. 136, 309-323 (1994)
- 2) 服部ら. 平成18年度第33回沖縄県家畜保健衛生業績発表会集録. 23-25