

## 業績ノート

## 乳肉複合経営農場における牛ウィルス性下痢ウイルス持続感染牛の摘発事例

大関 貴大, 斎藤 拓海

宮城県仙台家畜保健衛生所

### 1. はじめに

牛ウィルス性下痢（BVD）は、BVDウイルス（BVDV）の感染により引き起こされる感染症で、遺伝子型で1型及び2型、生物型でCP株及びNCP株に大別され、遺伝子型はさらに亜型に細分化される。妊娠牛が胎齢100日前後でNCP株に感染した場合、胎子は免疫寛容により持続感染牛（PI牛）となる可能性がある。PI牛は健康牛と区別が難しく、終生ウイルスを排出することから、他の牛への感染源となり<sup>1)</sup>、生産性を著しく低下させる原因となる。

令和6年、BVDワクチン未接種の乳肉複合経営農場において、令和5年12月出生の子牛2頭（乳用子牛1頭、肉用子牛1頭）が馬面で長期間発育不良を呈していたことから、BVDを疑い病性鑑定を実施しPI牛と診断した。本症例の病性鑑定成績と過去の県内発生例を比較した。

### 2. 材料及び方法

#### 1) 材料

供試牛は172日齢の乳用子牛及び353日齢の肉用子牛である（図1）。また、比較のため平成16年以降に県内で発生した4症例7頭を用いた。

#### 2) 病理組織学的検査

諸臓器を用いてHE染色及び免疫組織化学的染色（一次抗体：BVDV-1&2 Mab clone 348, VMRD社）を行った。

#### 3) ウィルス学的検査

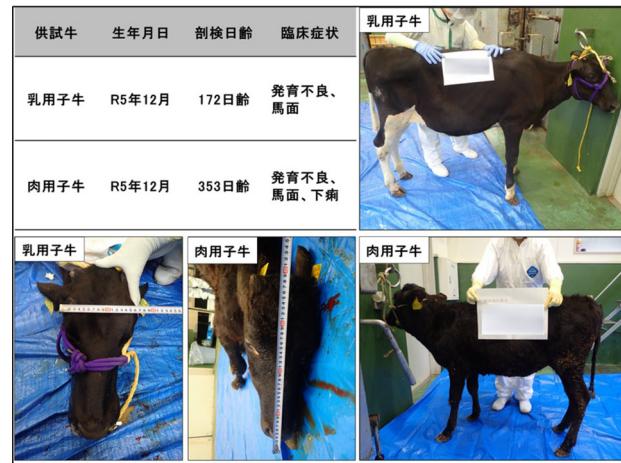


図1 外貌所見

#### （1）抗原ELISA検査

血液および10%臓器乳剤を用いて、市販キット（BVDV Ag エリーザキット、アイデックスラボラトリーズ社）を用いて実施した。

#### （2）遺伝子検査

血液及び10%臓器乳剤を用いて、RNAを抽出し（High Pure Viral RNA kit, Roche社）、RT-PCR<sup>2)</sup>を行った。陽性の場合、制限酵素Pst Iを用いてRFLPを行った。

#### （3）ウイルス分離（干渉法）

血液及び10%臓器乳剤をBFM細胞に接種した。37°C、5日間静置培養後、BVDV 1型（Nose株）を接種し、CPEの有無を判定した。

#### （4）中和試験

ペア血清について、BVDV 1型（Nose株）とBVDV 2型（KZ-91株）を指示ウイルスとし、MDBK-SY細

胞を用いて中和抗体価を測定した。

#### (5) シークエンス解析

分離ウイルスの5'非翻訳領域(UTR)及びE2領域の遺伝子配列のPCR産物について、ダイレクトシークエンスを実施した。5'UTR領域の配列を用いてBLAST解析を行い、E2領域の配列を用いて分子系統樹解析を行った。

#### 4) 細菌学的検査

主要臓器の一般細菌検査、小腸内容の定量培養検査、肺のマイコプラズマ遺伝子検査を実施した。

#### 5) 生化学的検査

血液、尿を用いて血液生化学的検査及び白血球百分比を実施した。

#### 6) 症例と過去の県内発生例との比較

平成16年以降に県内で発生した4症例について、摘発月齢、臨床症状、病理組織及びウイルス学的検査結果を比較した。

### 3. 結 果

#### 1) 剖検所見

乳用子牛では、体表及び腸間膜リンパ節の腫大、胸腺の一部非薄化、右側側脳室の軽度拡張を認めた。肉用子牛では、浅頸リンパ節及び胸腺の腫大、前頭葉表面の微細な泡沢を認めた(図2)。

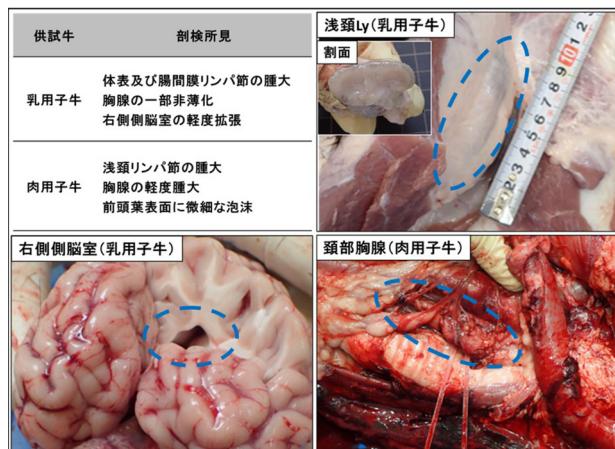


図2 剖検所見

#### 2) 病理組織学的検査

乳用子牛では、浅頸及び腸骨下リンパ節でリンパ球減少、頸部胸腺で微小出血が認められた。肉用子牛では、浅頸リンパ節でリンパ球減少、頸部胸腺で

充うつ血や好酸球浸潤、大脑で充うつ血が認められたが、いずれの子牛にもBVDの急性感染牛や粘膜病発症牛で認められるようなリンパ節の壊死や胸腺の低形成等の特徴的な所見は認められなかった(図3)。各臓器の免疫組織化学的染色では、2頭ともに複数臓器でマクロファージやリンパ球の細胞質内にBVDV陽性抗原が認められた(図4)。

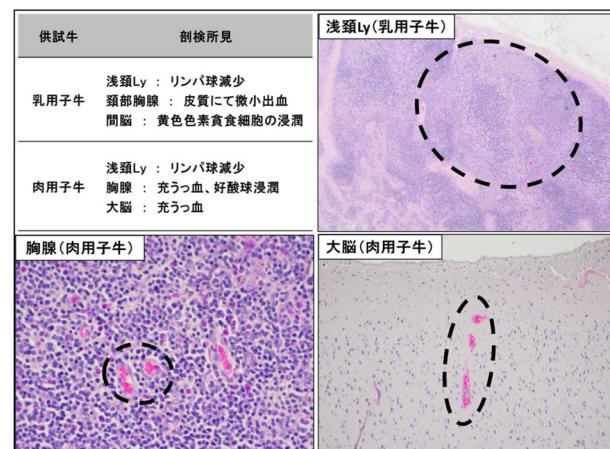


図3 組織所見

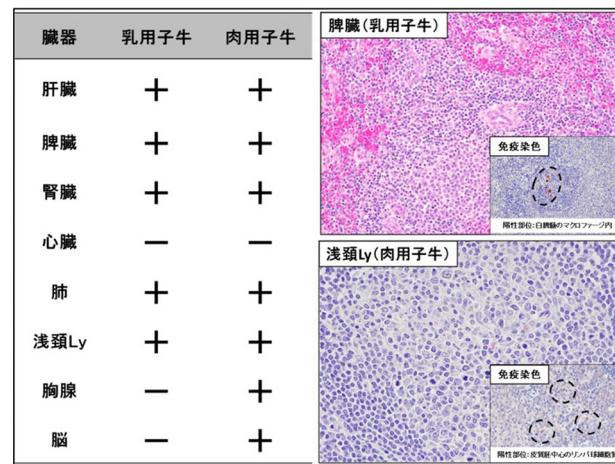


図4 免疫組織化学的染色結果

#### 3) ウィルス学的検査

抗原ELISA及び遺伝子検査では、2頭ともに検査した検体は全てで陽性であり、遺伝子型はBVDV 2型であった。ウイルス分離では、乳用子牛で、血清、白血球及び主要臓器のほか、眼結膜スワブ、鼻腔スワブ及び尿等の排泄物からもNCP株が分離され、肉用子牛では血清及び白血球でNCP株が分離された。中和試験では、2頭ともにBVDV 1型及び2型の抗体価は陰性であった。シークエンス解析については、

5' UTR領域では2頭から分離されたウイルス2株の塩基配列は100%一致した。また、E2領域では塩基配列は99.82%一致し、クラスターIのBVDV2a亜型に分類された（表1）。

表1 BVDV検査所見

乳用子牛	抗原 ELISA	PCR	分離	肉用子牛	抗原 ELISA	PCR	分離
血清(pre, post)	+	2型	+	血清(pre, post)	+	2型	+
白血球(pre, post)	+	+		白血球(pre, post)	+	2型	+
主要臓器	+			主要臓器	+	2型	NT
膝蓋	-			小腸内容物	+	2型	NT
空腸	+						
脳	+						
耳介	+						
浅頸Ly	+	2型	+				
腸間膜Ly	+						
腸骨下Ly	+						
関節液	+						
卵胞液	+						
乳腺	+						
眼結膜スワブ	+						
口腔スワブ	-						
鼻腔スワブ	+	2型	+				
尿	+						
糞便	-						
分離(+)は全てNCP株							

E2領域 塩基配列は99.82%一致、クラスターIに分類、BVDV2a亜型に分類

#### 4) 細菌及び生化学的検査結果

肉用子牛のみ肺から*M. haemolytica*が分離された。生化学的検査では2頭ともに異常値は認められなかった。

#### 5) 症例と過去の県内発生例との比較

本症例と同様、複数頭が摘発された県内発生例は4農場中2農場であった。摘発月齢は、本症例は6及び12ヶ月齢、県内発生例は1～52ヶ月齢と様々であった。臨床症状は、本症例は2頭ともに発育不良、馬面を呈し、うち1頭は下痢が認められた。県内発生例は、無症状が最も多く、次いで流産、発育不良、下痢の症状が散見された。ウイルス学的検査では、本症例と同様、全症例でNCP株が分離された。一方で、遺伝子型は本症例と異なり、全症例でBVDV1a亜型であった（表2）。剖検を実施した平成16年の症例は、発育不良を呈し、剖検所見でリンパ節、胸腺及び脳に所見が認められた点は本症例と共通しており、加えて脾臓の腫大が認められた。組織所見では、リンパ節で著変なく、胸腺で広範囲の出血巣、脳で充うつ血、脾臓で白脾髄に星空像が散在性に認められたが、本症例と同様にBVDの急性感染牛や粘膜病発症牛の特徴的な所見は認められなかった。

表2 症例と過去の県内発生例との比較

年度	品種	頭数	摘発月齢	臨床症状	生物型	遺伝子型	
H16	肉用	4頭	1 10 33 47	発育不良 下痢 無症状 無症状	NCP	1a	
H17	乳用	1頭	(同居1頭 粘膜病)	11	無症状	NCP	1a
H18	乳用	1頭	33	流産	NCP	1a	
H20	乳用	1頭	52	流産	NCP	1a	
R6	乳用 肉用	1頭 1頭	6 12	発育不良、馬面 発育不良、馬面、下痢	NCP	2a	

## 4. 考 察

BVDV 2型遺伝子陽性及び抗体陰性であったことから、本症例の子牛2頭をBVDV 2型のPI牛と診断した。PI牛は、鼻汁、唾液、糞、尿等に大量のウイルスを排出する<sup>3)</sup>ことが知られており、本症例の乳用子牛の鼻腔スワブや尿からBVDVが分離されたことから、当該子牛はウイルスを排泄し他の牛の感染源となっていたことが示唆された。

肉用子牛について、*M. haemolytica*の感染が確認された。PI牛はBVDV以外の病原因子に対して免疫応答能が低く、二次感染や日和見感染を起こしやすい<sup>3)</sup>ことから、BVDVの持続感染による免疫低下の影響で当該菌に感染した可能性が考えられた。

本症例の母牛の感染時期は、PI牛の発生機序及び出生日が令和5年12月であることから、同年6月頃と考えられた。分離されたBVDVは塩基配列が極めて類似しており、出生時期も同じであることから、同一のウイルスにより発生したと考えられた。

過去の県内発生例との比較では、臨床症状、病理組織及びウイルス学的検査において、一貫した所見は認められなかった。県内で分離されたBVDVの遺伝子型は、平成20年度以前は1a型であったが、令和6年度は2a型であった。これは、2000年から2020年にかけて国内流行株が1a型から2a型に変化しているという報告<sup>4)</sup>と類似していた。また、Hultら<sup>5)</sup>はBVDV感染を広げる最も重要なリスク因子は農場間における牛の移動であると報告していることから、県内の遺伝子型の変化についても牛の移動に起因し

ている可能性が高く、牛の移動歴の把握は重要であることが示唆された。

当県におけるBVDの発生は少ないものの、本病の蔓延を防ぐため、農場に対しBVD対策の重要性を改めて普及し、PI牛の淘汰やワクチン接種を推進していく必要がある。

## 5. 引用文献

- 1) 坪井孝益：牛ウイルス性下痢・粘膜病，8，公益社団法人中央畜産会，東京（2017）

- 2) Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ: Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- 3) 猪熊壽，北川均，内藤善久：獣医内科学，大動物編，第2版，292，文英堂出版，東京（2014）
- 4) Nishimori A, Hirose S, Ogino S, Andoh K, Isoda N, Sakoda Y : Endemic infections of bovine viral diarrhea virus genotypes 1b and 2a isolated from cattle in Japan between 2014 and 2020, J Vet Med Sci, 84(2), 228-232 (2022).
- 5) Hult L, Lindberg A : Experiences from BVDV control in Sweden, Prev Vet Med, 72, 143-148; discussion 215-219 (2005)