

12 県内初のC群ロタウイルスによる搾乳牛の集団下痢症

西北地域県民局地域農林水産部つがる家畜保健衛生所

○對馬澄人 豊澤直子
佐野明子 角田裕美
森山泰穂 今真理子
小笠原良孝 阿部知行

1 はじめに

ロタウイルス病は、ロタウイルスによる下痢を主徴とする急性疾病であり、牛においてはA、B及びC群ロタウイルス（以下、GAR, GBR, GCR）が検出されている。¹⁾

GCRによる牛の下痢症は、全国で発生報告が少なく、1991年に北海道で初めてウイルスが分離されて以後、山形県、石川県、富山県、埼玉県、新潟県、香川県及び福井県の7県で遺伝子の検出が報告されている。しかし、青森県ではこれまで検出例がなく、今回、管内においてGCRによる搾乳牛の集団下痢症が発生したので、その概要を報告する。

2 発生農場の概要

農場は、弘前市で成牛41頭、育成牛17頭及び子牛3頭、計61頭を飼養する酪農場である。飼料は、ヘイレージを主体に、デントコーンサイレージ、ホールクロップサイレージ、ヘイキューブ、乳牛用配合飼料、重曹、リン・カルシウム混合飼料を給与していた。

3 農場見取り図

牛舎は、図1に示すように2棟あり、発生時にA舎では搾乳牛39頭、B舎では乾乳牛2頭、

育成牛17頭及び子牛3頭の計22頭を、つなぎで飼養していた。

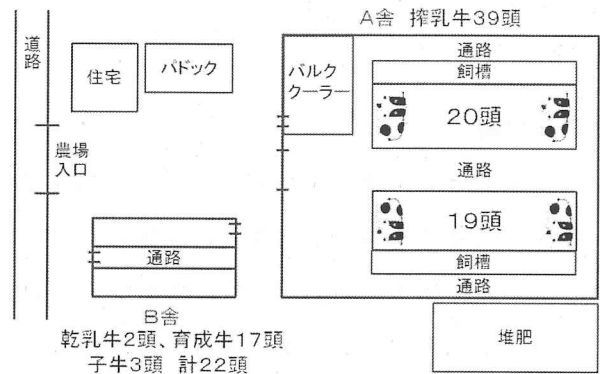


図1 農場見取り図

4 発生経過

平成26年6月7日の夕方、A舎において、搾乳牛39頭の内8頭に図2に示すような泥状～水様性下痢及び食欲減退が確認され、発熱は認められなかった。

翌8日の朝、A舎の搾乳牛半数以上に下痢が拡大し、1頭が起立不能となったことから、当所に通報があり立入検査を実施した。

9日には、A舎の搾乳牛全頭に下痢が確認され、その後、発症牛の治療及び消毒の徹底等を行い、下痢は発生から約10日で終息した。

なお、B舎には下痢は認められなかった。



全体の様子

食欲減退

泥状下痢

水様性下痢

図2 A舎の発生状況

5 材料

発症牛 5 頭の糞便を材料に、ウイルス学的、細菌学的及び寄生虫学的検査を実施した。また、A 舎発症牛 10 頭、B 舎の乾乳牛 2 頭、子牛 3 頭のペア血清について、抗体検査を実施した。

6 方法

(1) ウイルス学的検査

① 簡易検出キット検査

GAR 及び牛コロナウイルス(以下、BCV)簡易検出キットを用いて実施した。

② ウイルス分離

糞便の 10% 乳剤を MDBK-SY 細胞、HRT-18 細胞及び MA104 細胞に接種し、7 日間 3 代培養を実施した。なお、MA104 細胞に用いる乳剤は、トリプシン濃度 $10 \mu\text{g/ml}$ で処理後、細胞に接種した。さらに、培養液にはトリプシンを添加し、最終濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ に調整したものをを用いて回転培養を実施し

た。

③ 遺伝子検査

糞便の 10% 乳剤から遺伝子を抽出し、GAR、GBR、GCR、牛トロウイルス(以下、BToV)、BCV 及び牛ウイルス性下痢ウイルス(以下、BVDV)に特異的なプライマーを用いて、RT-PCR を実施した。

④ 遺伝子解析

GCR の VP7、VP6 及び VP4 領域の PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、既報の牛 GCR 株及び他動物種由来 GCR 株における塩基配列情報を用いて系統樹解析を実施した。

なお、本解析は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所に依頼し実施した。

⑤ 抗体検査

BCV、BVDV1 型及び 2 型について、ウイルス中和試験を実施した。

(2) 細菌学的検査

DHL 寒天培地を用いて、大腸菌定量培養及びサルモネラ菌分離培養を実施した。

(3) 寄生虫学的検査

常法に従い浮遊法により実施した。

7 成績

(1) ウイルス学的検査

ウイルス学的検査成績を表1に示した。

① 簡易検出キット検査

GAR 及び BCV は、全検体陰性であった。

表1 検査成績

No	簡易検出 キット検査		ウイルス 分離	遺伝子検査					
	GAR	BCV		GAR	GBR	GCR	BTov	BCV	BVDV
1	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4	-	-	-	-	-	+	-	-	-
5	-	-	-	-	-	+	-	-	-

② ウイルス分離

ウイルスは、全検体から分離されなかった。

③ 遺伝子検査

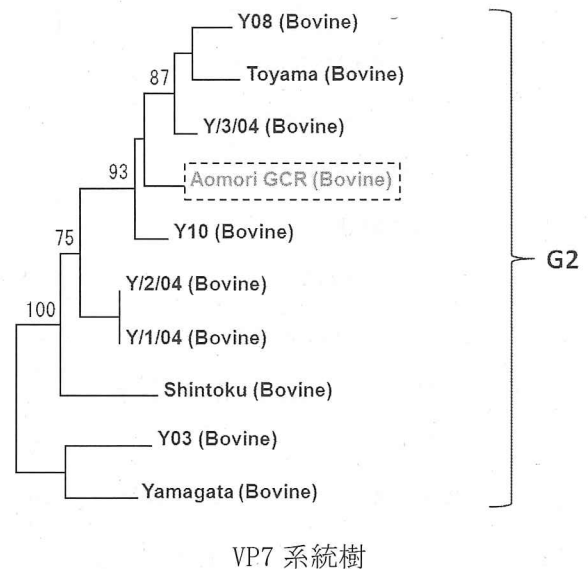
GAR、GBR、BTov、BCV 及び BVDV については全検体陰性であり、GCR 遺伝子のみ全検体から検出された。

④ 遺伝子解析

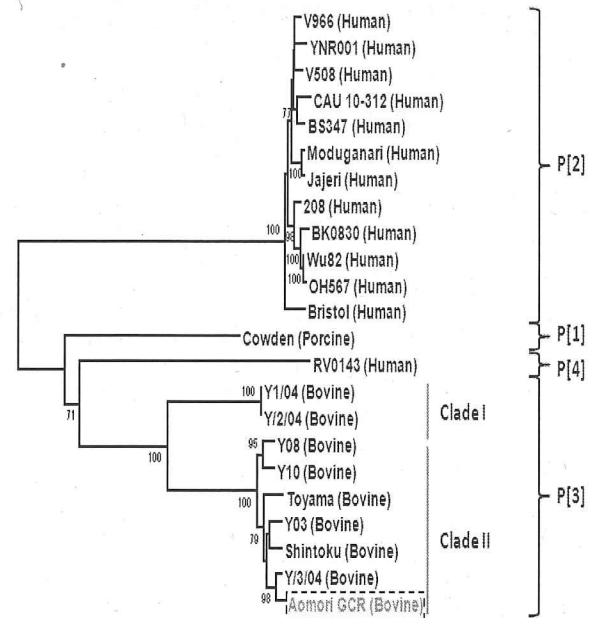
全検体それぞれから、VP7、VP6 及び VP4 遺伝子の増幅産物を確認した。得られた PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、既存の牛 GCR Shintoku 株と配列を比較した結果、本検体は各遺伝子共に Shintoku 株に類似していた。今回の検体と既報の牛 GCR 株及び他動物種由来 GCR 株における塩基配列情報を用いて系統樹解析を行った結果、図 3-1, 2 に示すよ

うに、今回の検体はいずれも G2, I3, P[3]

(Clade II) に分類され、従来から国内の牛で検出されているウイルス株に類似していた。



VP7 系統樹



VP4 系統樹

図 3-1 遺伝子解析成績

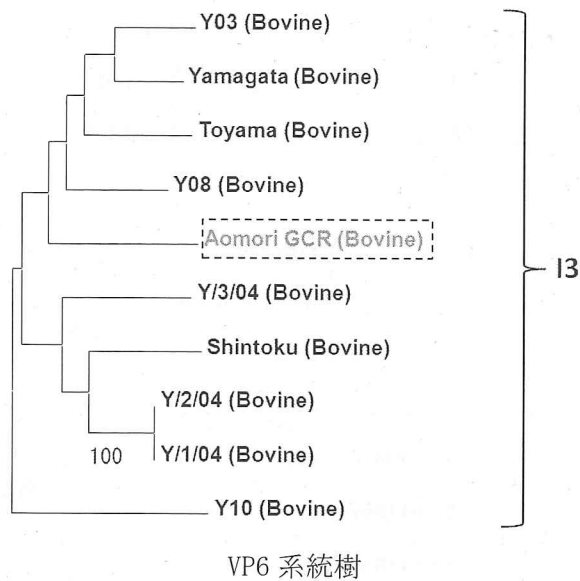


図 3-2 遺伝子解析成績

⑤ 抗体検査

BCV、BVDV1 型及び 2 型の抗体検査の結果、表 3 に示すように、抗体の有意な上昇はなく、これらの混合感染は認められなかった。

なお、No6 号牛は県外導入牛、No8 号牛は育成期に管外預託牧場を利用した個体である。

表 3 抗体検査成績

No	牛舎	区分	BCV		BVDV1型		BVDV2型	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
1			256	256	<2	<2	<2	<2
2			512	512	<2	<2	<2	<2
3			64	128	<2	<2	<2	<2
4			32	16	<2	<2	<2	<2
5	A	発症牛	256	NT	<2	NT	<2	NT
6			256	128	128	256	32	16
7			256	256	<2	<2	<2	<2
8			512	512	256	512	16	32
9			256	256	<2	<2	<2	<2
10			256	256	<2	<2	<2	<2
11	B	乾乳牛	8	8	<2	<2	<2	<2
12		<2	<2	<2	<2	<2	<2	
13	子牛	<2	<2	<2	<2	<2	<2	
14		<2	<2	<2	<2	<2	<2	
15		2	2	<2	<2	<2	<2	

(2) 細菌学的検査

全検体から、有意菌は分離されなかった。

(3) 寄生虫学的検査

全検体から、寄生虫卵及びブコキシジウムは認められなかった。

8 調査

(1) 疫学

発生原因について、疫学調査を実施した。飼料は、6月4日まで平成25年度産の自家産ヘイレージと購入したデントコーンサイレージを主体に給与していた。しかし、これらが在庫不足となったため、発生の2日前である6月5日から、平成26年度産の自家産1番草に切り換えを行っていた。

集乳車は1日おきに来場しており、その他過去1か月の来場者は、削蹄師、獣医師及び飼料販売業者であった。

また、家畜の移動やワクチンの接種歴はなかった。

(2) 発生前後の気温

発症誘因の検討では、発生前後の気温について調査を実施した。図4に示すように、5月28日から発生の2日前である6月5日にかけて、最高気温が30℃前後の高温が続いていた。また、飼料を変更した日の最高気温が30.9℃、最低気温が14.2℃で、日較差は16℃以上あり、発生前日には最高気温が25℃を下回る急な気温変化が認められた。

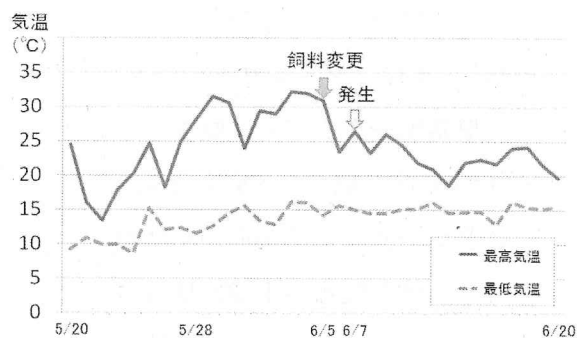


図 4 発生前後の気温

(3) 乳量と気温

搾乳牛の下痢症は、乳量低下を伴う場合が多いこと、さらに、発生時には高温が続いていたことから、乳量への影響について検討した。

乳量は、図5に示すように、6月7日の下痢発生後、約20%減少し、終息した約10日後には回復傾向にあった。しかし、再び減少し乳量減少期間は約2か月となった。この期間の気温は、下痢の終息後から最高気温が30℃前後に上昇していた。当該農場は、例年夏季であっても乳量減少が認められないことから、今回の下痢症が乳量に長期間影響したものと考えられた。

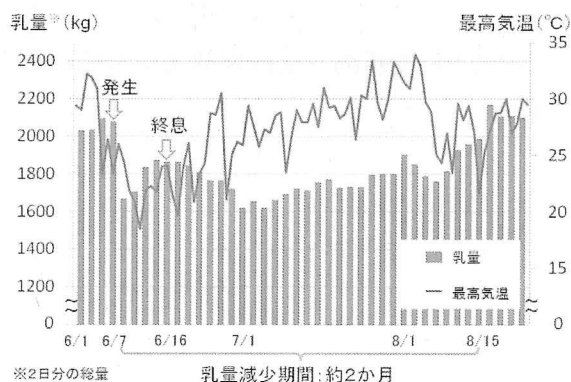


図5 乳量と気温

9 対策

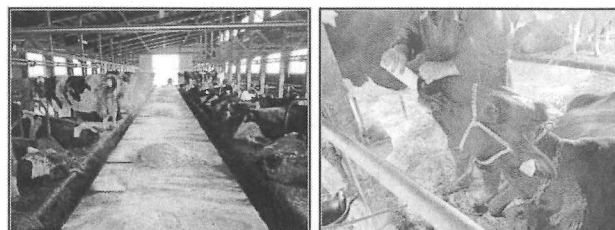
(1) 発生農場の対策

発生農場には、ウイルス拡散防止のため、牛舎内通路への消石灰散布を指導し、牛舎間の移動時には長靴の洗浄及び消毒を徹底するよう指導した。

また、早期回復のため全頭に生菌剤、起立不能牛には補液と強肝剤を投与するように

指導した。

さらに、飼料の急変があったことから、飼料は在庫状況を確認し、新しい飼料へは徐々に切替えていくよう指導した。



消石灰散布後の通路 治療中の発症牛

図6 発生農場の対策

(2) まん延防止対策

集乳車の対策として、当該農場の巡回順を最後になるように変更し、各農場において、集乳車のタイヤ周辺及び集乳ホースの外側を消毒するよう指導した。

また、管内の他酪農場に対して、農場入口への消石灰散布等、消毒の徹底を指導した。

さらに、全牛飼養者、関係獣医師及び市町関係団体には、牛ロタウイルス病の情報提供と消毒の徹底、早期発見・通報について図7に示す広報を作成し配布した。

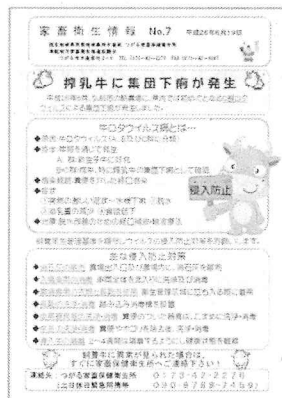


図7 配布広報

1 0 継続調査

牛ロタウイルス病では、長期間ウイルスを排泄し続けた事例があることから²⁾、発生3か月後のウイルス保有状況確認のため、継続調査を実施した。

搾乳牛47頭、乾乳牛2頭及び育成牛2頭の計51頭について、糞便の10%乳剤から遺伝子を抽出し、GCRに特異的なプライマーを用いて、RT-PCRを実施した。その結果、全頭からウイルス遺伝子は検出されなかった。

1 1 まとめと考察

病性鑑定の結果、GCR遺伝子が検出され、抗体検査ではBCV、BVDV1型及び2型に有意な抗体上昇が認められなかったことから、本症例を県内初のGCRによる牛ロタウイルス病と診断した。

また、三竹博道ら²⁾により、GARの持続感染が疑われた子牛について報告されているが、今回の継続調査では、GCR遺伝子は検出されず、3か月後にウイルスを保有する個体は認められなかった。

既報のGCRによる牛ロタウイルス病では、搾乳牛に集団下痢発生、10~20%程度の乳量減少が認められており³⁾、本事例においても乳量は最大で約20%減少しており同様であったと考えられた。

侵入経路については、今回実施した疫学調査の結果、1か月以内に来場者があったが、本県及び近隣県に発生報告がないため、特定には至らなかった。

また、発症誘因は、発生前の高温、日較差に加えて、ヘイレージから一番草への飼料の急変

及び搾乳によるストレスであると考えられた。

これらのことから、搾乳牛の集団下痢は、乳量への影響が非常に大きいことから、第一に飼養衛生管理基準を順守することでウイルスの農場への侵入を防止し、飼料の急変や気温によるストレスを減らすなど、適正な飼養管理が重要であると考えられた。

参考文献

- 1) 小沼操ら：動物の感染症, 第二版, 近代出版, 114(2002)
- 2) 三竹博道ら：A群ロタウイルスの持続感染が疑われた子牛の1例, 第154回日本獣医学会学術集会講演要旨集, 267(2012)
- 3) 村山和範ら：県内で初確認されたB群及びC群ロタウイルスによる牛ロタウイルス病, 平成24年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録