

春季に酪農場で発生した牛コロナウイルス病

上北県民局地域農林水産部 十和田家畜保健衛生所

○富山 美奈子 小笠原 清高
福住 翔 東海林 明子
白戸 明 斗沢 富夫
小笠原 和弘

1 はじめに

牛コロナウイルス病は牛コロナウイルス（以下、BCV）を原因とする感染症で、遺伝子型は4つに分けられ、現在では全国的に4型が発生の主流となっている[1]。

BCV病は子牛・成牛で水様性下痢や冬季赤痢とよばれる血便を呈することもあり、感染後は牛群内に急速にまん延し、泌乳牛では急激な乳量低下をおこすため、経済被害も大きい感染症である。冬季、急激な気温の低下などの寒暖差ストレスのある時期に好発する[1]。

平成26年4月末に当所管内の酪農家で集団下痢が発生、病性鑑定の結果、BCV病と診断したのでその概要を報告する。

2 発生概要

(1) 発生状況

農場は当所管内のホルスタインを飼養する酪農家で成牛30頭、育成牛5頭の合計35頭を飼養し、自家産牛はワクチン未接種であった。

平成26年4月21日、農場は県外家畜市場から妊娠牛（牛6種混合不活化ワクチン接種済み）を1頭導入し、搾乳牛舎の中央

部に配置した。4月25日に搾乳牛1頭が40℃の発熱を呈し、4月29日には牛舎内に発熱、下痢、血便の症状がまん延したため、畜主が民間獣医師に治療を依頼した。4月30日夕方、加療中の搾乳牛が死亡したため（以下、死亡牛）、民間獣医師が家保へ通報し、翌5月1日に家保が農場に立ち入り検査を実施し、死亡牛を解剖した。

5月7日に民間獣医師が下痢のまん延が終息したことを確認した（表1）。

表1 発生経緯

年月日	発生状況
H26年4月21日	県外から妊娠牛1頭導入
25日	搾乳牛1頭が発熱（40℃）
29日	発熱、下痢、血便の症状が搾乳牛舎にまん延 民間獣医師による治療開始
30日	25日に発熱した搾乳牛死亡 民間獣医師が家保へ通報
5月1日	立入検査、死亡牛解剖
7日	下痢まん延が終息

(2) 立入検査

農場は敷地に2棟の牛舎（搾乳牛舎、育成牛舎）を有し、5月1日の立入検査時に血便や下痢等の症状を示す牛の多くが搾乳牛舎東側で認められた（図1）。育成牛舎では下痢のまん延は認められなかった。

農場では、給餌、搾乳等の作業は畜主1人で行っていた。搾乳牛舎の西から東へ南北交互に、バケットミルクカーで搾乳が行われており、集乳は2日毎に行われていた。

農場では過去に今回のような下痢のまん延はなく、また発生農場周囲の農場においても同様の発生はなかった。

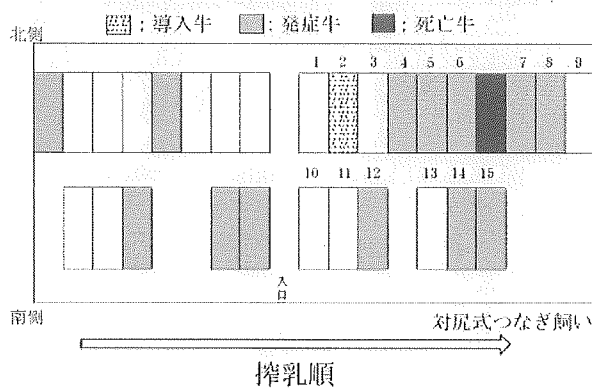


図1 搾乳牛舎配置図

3 材料及び方法

(1) 材料

死亡原因と下痢まん延の原因を確認するため、死亡牛解剖を実施し主要臓器及び腸管(小腸、大腸)を採材し、導入牛を含む同居牛15頭(図1、No.1~15)からは糞便と血液を採材した。

糞便は立ち入り時の5月1日から採取し、血液は5月1日採血分(前血清)と5月21日採血分(後血清)をペア血清とした。

(2) 方法

ア 血液一般検査

5月1日に採血した同居牛血液を自動血球計数装置にて測定し、ヘマトクリット(Ht)値を測定した。

イ ウイルス学的検査

1) ウイルス分離

死亡牛腸管と同居牛糞便の10%乳剤をMDBK-SY細胞及びHRT-18細胞に接種し、37℃7日間を1代として、3代まで培養した。

2) 遺伝子検査

ウイルス分離で用いた10%乳剤から遺伝子を抽出し、BCV、牛トロウイルス(BToV)、ロタウイルスA、B、C(RVA、RVB、RVC)に特異的なプライマーを用いてRT-PCRを実施した。

死亡牛の肺パラフィン切片から遺伝子を抽出し、BCV及びRSウイルス(RSV)に特異的なプライマーを用いてRT-PCRを実施した。

また、ペア血清を用いてBCVに対するウイルス中和試験を実施した。

3) 遺伝子型別

BCVについては、死亡牛腸管乳剤から得られた遺伝子増幅産物を用いて制限酵素による遺伝子型別を実施した。

ウ 細菌学的検査

死亡牛主要臓器、腸管内容物及び同居牛糞便を、5%羊血液加寒天培地、DHL寒天培地、ハーナーテトラチオネート培地及びESサルモネラ寒天培地Ⅱにて好気培養、5%羊血液加寒天培地、カナマイシン加CW寒天培地にて嫌気培養を実施した。分離された菌については1濃度ディスク法を用いて7薬剤(アンピシリン、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、ST合剤、ナリジクス酸、オフロキサシン、ノルフロキサシン)について薬剤感受性試験を実施した。

エ 病理組織学的検査

死亡牛主要臓器及び腸管について常法によりパラフィン包埋後、薄切しヘマトキシ

リン・エオジン (HE) 染色を実施した。

オ 寄生虫学的検査

死亡牛腸管内容物及び同居牛糞便を浮遊法によりコクシジウムの有無を確認した。

4 検査成績

(1) 死亡牛

ア ウイルス学的検査

腸管乳剤のウイルス分離は陰性であったが、BCV 遺伝子陽性であり、その遺伝子型は 4 型であった。

肺パラフィン切片の BCV、RSV 遺伝子は陰性であった。

イ 細菌学的検査

有意菌の分離はなく、小腸内容物の *Clostridium perfringens* の定量培養は 400CFU/g であった。

同菌の薬剤感受性試験ではナリジスク酸、オフロキサシン、ノルフロキサシンに感受性を示した。

ウ 病理解剖学的検査

外貌では著変は認められなかった。肺では両後葉の一部に肺気腫を認めた。十二指腸から空腸下部まで腸粘膜のひ薄化、結腸、盲腸粘膜の充出血が見られた。その他臓器には著変が認められなかった。

エ 病理組織学的検査

肺では病変の主体は間質にあり、びまん性に肺胞腔は拡張し、小葉間結合織の水腫性肥厚が認められた。肺胞腔内には多発性巣状に中等度線維素の析出があり、多核化を伴うマクロファージ、リンパ球、形質細胞が浸潤していた。結腸ではびまん性に中等度から高度の陰窩減数が認められ、陰窩

上皮の壊死・剥離が認められた (図 2)。

オ 寄生虫学的検査

コクシジウムは確認されなかった。

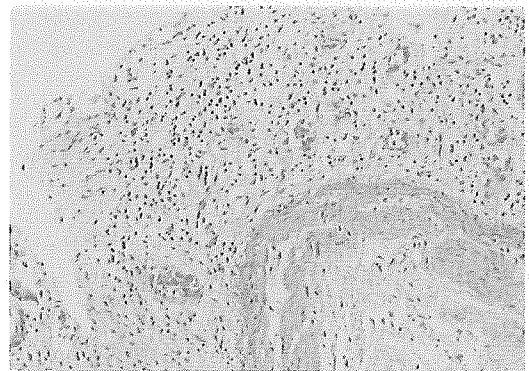


図2 陰窩上皮細胞の減数
(結腸:HE染色)

(2) 同居牛

ア 臨床症状と血液一般検査

14 頭中 4 頭に発熱が認められた。15 頭中 9 頭に下痢または血便の臨床症状が認められ、15 頭中 13 頭に貧血が認められた (表 2)。

イ ウイルス学的検査

ウイルス分離は全検体陰性であった。遺伝子検査では、BCV 遺伝子は 15 頭中 8 頭 (表 3 の No. 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 15) が陽性であった。BToV、RVA、RVB、RVC 遺伝子は全て陰性であった。

抗体検査では、導入牛とその隣接牛である 2 頭 (表 3 の No. 2, 3) が前血清で 4096 倍以上の BCV 抗体価を示し、13 頭が後血清において有意な抗体価上昇を示した (表 3)。

ウ 細菌学的検査

有意菌の分離はなかった。

エ 寄生虫学的検査

全検体コクシジウムは確認されなかった。

表2 同居牛の臨床症状とHt値

牛No.	体温 (°C)	臨床症状	Ht値 (%)	備考
1	38.0		19.9	
2	38.9		26.1	4/21導入牛、乾乳
3	38.5		29.6	
4	38.9	下痢	18.8	
5	39.6	下痢	16.2	
6	38.4	下痢、血便	13.8	
7	38.3	下痢	29.3	
8	39.1	下痢	23.3	
9	38.5		27.5	
10	NT	血便	25.3	
11	38.2		28.5	
12	38.5	下痢	32.8	乾乳
13	38.7		37.2	
14	38.3	軟便	27.4	乾乳
15	39.3	軟便	28.4	乾乳

斜体は発熱、下線は貧血を示す

表3 同居牛のウイルス学的検査成績

牛No.	ウイルス分離 (BCV)	遺伝子検査 (BCV) ※	抗体検査 (BCV)	
			病急請	検査済
1	陰性	陰性	512	≧4096
2		陰性	≧4096	≧4096
3		陰性	≧4096	≧4096
4		陽性	8	512
5		陽性	8	1624
6		陽性	8	≧4096
7		陰性	1624	≧4096
8		陽性	512	≧4096
9		陰性	512	≧4096
10		陽性	1624	≧4096
11		陰性	1624	≧4096
12		陽性	2	1624
13		陰性	1624	≧4096
14		陽性	8	≧4096
15		陽性	512	≧4096

※BToV、RVA、RVB、RVGは全て陰性

5 集乳量と平均気温の推移

BCV病は寒暖差ストレス時に好発し、乳量低下が認められる疾病であることから、4月から6月中旬までの農場の所在する市町村の平均気温の推移と集乳量を調査した(図3)。

乳量は導入牛を農場に入れた後の4月27日頃から低下が始まり、休薬期間後の乳量は下痢まん延前の約70%まで低下した。

5月1日の立入検査後、民間獣医師が搾乳牛6頭に抗生剤を投与したため、休薬期間により5月8日の集乳はなかった。減少した乳量は6月まで回復しなかった。

平均気温は、4月3日から4日、4月17日から19日にかけて気温低下があったが、下痢まん延、乳量低下は認められなかった。

導入直後の4月27日から29日にかけての気温低下では、それと連動し下痢のまん延、乳量低下が認められた。

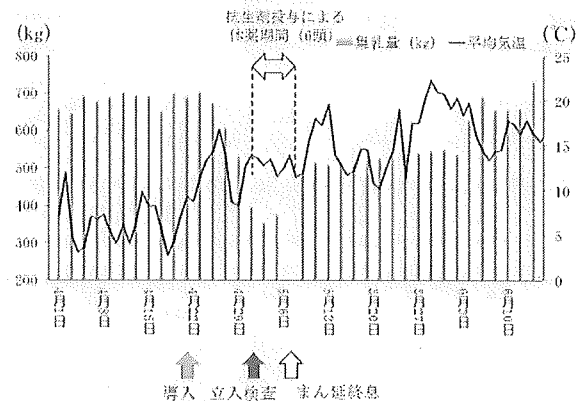


図3 集乳量と平均気温の推移

6 対応

本事例では急速に農場内に下痢がまん延したため、以下について指導を行った。

(1) 飼養衛生管理基準の徹底

搾乳牛舎は対尻式であったため、通路への消石灰散布や踏み込み消毒槽の増設、導入牛は隔離観察せずに搾乳牛舎中央部で使用していたため以後の導入牛については隔離観察することを指導した。

(2) 他農場へのまん延防止

2日毎の集乳車の巡回順序が最初であったため、他農場への下痢まん延を防止するため順序を最後に変更することを指導した。

(3) 治療及び衛生管理

死亡牛から分離された細菌の薬剤感受性試験成績を民間獣医師へ伝え、治療方針への助言を行うとともに、自家産牛はワクチン未接種のため下痢まん延終息後のワクチン接種を指導した。

7 まとめ及び考察

本事例では、死亡牛の主病変は肺と結腸に認められた。腸管乳剤からはBCV遺伝子

は検出されたものの、肺パラフィン切片からはBCV、BRSVの遺伝子は認められなかった。既報と同様に結腸陰窩の壊死・脱落が認められており、BCVに感染した死亡牛が急性間質性肺炎による呼吸困難により死亡したものと考えられた[2, 3]。

同居牛においては、採材した15頭中8頭からBCV遺伝子が検出され、この8頭は全て臨床症状が認められていた。このことから、農場における下痢のまん延はBCV病によるものと診断した。

農場へのウイルスの侵入経路は外部からの持ち込み、または4月21日に県外から導入した牛による持ち込みが考えられるが、発生農場は外部の人間の出入りは集乳以外になく、集乳順序も最初であった。導入牛とその隣接牛の2頭は抗体検査の前血清で高い抗体価が得られていることから、採血した5月1日に近い時期でBCVとの接触があったことが示唆され、農場におけるBCV感染源として疑われた。しかし隣接牛は、導入前から飼養されており、抗体価の有意上昇が認められた13頭のうち5頭の前血清抗体価が低いため、牛群としてのBCV接触は5月1日にごく近い時期と考えられ、導入牛が感染源であった可能性が示唆された。

本事例においては4月27日から29日の気温低下と連動して、下痢のまん延、乳量低下が認められたことから(図3)、この期間の寒暖差ストレスが発生誘因であると考えられる。導入牛を農場に入れる前の寒暖差ストレス下ではBCV病発生はなく、この点においても隣接牛ではなく導入牛が感染源である可能性が示唆された。既報におい

ても夏季のBCV病発生は報告されており[4]、本事例では冬季ではなく4月下旬にBCV病が発生したのは、寒暖差ストレスと導入牛が要因となったものと考えられた。

農場においては、下痢は東から西に向かう搾乳順序に沿ってまん延しており、BCVを含む糞便が通路に飛散し、搾乳のため通路を歩いた長靴で牛の前後を移動することで感染が拡大し、牛舎内に急速に下痢がまん延したものと考えられた。

参考文献

- [1] 菅野徹, 牛コロナウイルス感染症とその予防対策, 家畜診療, 60, 459-464
- [2] 佐藤圭介ら, 呼吸器症状を主徴とした牛コロナウイルス病の発生事例, 平成27年3月17日閲覧,
http://www.pref.niigata.lg.jp/HTML_Article/598/516/H25-12,0.pdf
- [3] 家畜衛生研修会(病性鑑定病理部門, 2013)における事例記録(I)
:日獣会誌 67, 495-498(2014)
- [4] 菅原健ら: 酪農家で発生した牛コロナウイルス病, 平成25年度家畜保健衛生業績発表会集録, 70-73(2014)