

## 管内乳牛の牛ウイルス性下痢ウイルス浸潤状況調査

紀北家畜保健衛生所

○山田陽子 亀位 徹

鳩谷珠希 豊吉久美

### 【背景】

牛ウイルス性下痢・粘膜病は牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）による疾病で、近年その発生は全国的に増加している。県では平成18年度にBVDVの持続感染牛（PI牛）を摘発淘汰して以降発生はない。平成26年度より家畜伝染病予防事業の新規項目としてBVDV抗体検査が追加された。しかし検査対象条件（酪農場10戸、10頭／農場、自家産、6～18ヶ月齢、ワクチン未接種）に該当する牛が管内で20頭に満たなかったため、対象牛にとらわれず管内酪農場の全頭調査をすることにした。

### 【目的】

最新の管内乳牛のBVDV浸潤状況を把握するため①BVDV抗体および遺伝子検査を実施し、②その中からPI牛摘発歴のある、もしくは抗体陽性率9割以上の4農場を選定し比較検討した。

### 【方法】

①管内7農場（農場A～G：表1.飼養状況参照）の乳牛183頭の平成26年度ヨーネ病検査余剰血清を用いた。抗体検査はBVDV1型標準株である（Nose株）に対する中和試験を実施した。血清は96穴マイクロプレートを使用し2倍段階希釈し、細胞変性効果（CPE）が認められない血清をBVDV抗体陽性、認められる血清を抗体陰性と判定し、抗体価は最大16倍まで求めた。

遺伝子検査は血清を3検体プールし抽出キット（RNeasy Mini Kit、キアゲン）を用いてRNAを抽出後、RT-PCRキット（Prime Script One Step RT-PCR Kit Ver2（Dye Plus）、タカラ）及びVilcekら（1994）の報告によるプライマー（324、326）を用いてBVDVのRT-PCR検査を実施した。

②選定4農場（農場A～D）について平成21・23年度余剰血清を用いてBVDV抗体検査を実施し、それ以前（平成12・13・14・18年度）の検査済みの結果とともに農家毎の抗体陽性率の推移を調査した。

### 【結果】

①平成26年度の抗体陽性率の結果を図1に示す。預託に出す牛にBVDVワクチン接種を実施しているC、D農場では90%以上であったが、その他の未接種5農場では0～35%であった。遺伝子検査では全ての検体から遺伝子は検出されなかった。

牛の外部導入率、預託歴率と合わせた結果（図2）では、A、B及びC農場では過去にPI牛の摘発歴があったが、摘発から8年以上経過

しているためワクチン未接種のAおよびB農場は陽性率は3割以下であった。C農場は導入牛が半数以上で残りの自家産牛は全て預託歴があり、陽性率が9割以上であった。D農場は導入牛はなく全て自家産かつ預託歴があり、ワクチン接種歴があるため陽性率が100%であった。E農場は4割が導入牛で、抗体陽性牛の全ては導入牛であった。F農場は全頭抗体陰性で、導入および預託歴もなかった。G農場は全て自家産で預託歴もなくワクチン接種歴もないが、陽性率が3割以上であった。

②選定4農場の平成12から26年度までの抗体陽性率の推移を図3に示す。A農場ではもともと陽性率が0%であったが、平成13年度に突然100%となり、その後PI牛が摘発された。ワクチン接種をしていないAおよびB農場ではPI摘発後は年々陽性率は低下し、8年以上経過すると2割以下となった。

C農場では平成14年度にPI牛の摘発があったが、導入牛や預託歴があるため陽性率は常に8割以上であった。D農場は全頭ワクチン接種後預託歴があり、同じく陽性率が常に8割以上であった。

#### 【考察】

①遺伝子検査の結果より7農場からPI牛は摘発されなかった。

②AおよびB農場でPI牛摘発後陽性率が年々減少したのはBVDVワクチン未接種で自家産農場であるためと考えられた。C・D農場の陽性率は常に8割を超え、C農場ではPI牛摘発後も陽性率に大きな変化は認められなかったのは、C・D共にワクチン接種済みの導入牛もしくは預託歴のある牛が多いためと考えられた。ワクチン未接種農場ではA農場のPI牛摘発時のように急な陽性率上昇によってウイルス侵入を予測しやすいが、高陽性率のワクチン接種農場でもC農場のように導入牛の多い農場ではPI牛が摘発される場合がある。

以上のことから今後ともワクチン接種を推奨した上で各農場全体の抗体検査を定期的実施し、陽性率9割以上の農場の抗体陰性牛または低抗体価の牛は、PI牛の疑いがあるため遺伝子検査を実施していく必要があることがわかった。

更に今後県内のPI牛摘発のためのスクリーニング検査として次の2点を検討していきたい。一つめはバルク乳遺伝子検査で、搾乳牛にPI牛が存在すれば採材が簡易で迅速に摘発できる。ただし、検体に乾乳牛や育成牛は含まれないため、検査陰性が農場陰性ではない。次に、抗原検出ELISAという平成25年に承認された血清中BVDV抗原を検出するELISAがある。この場合多検体処理が容易でコストもPCRに比べて安価である（PCR：¥1100～1300/検体、ELISA：¥450～900/検体）。

いずれにしてもワクチン未接種農場へは接種をすすめることにな

り、ワクチンブレイクを考慮するため、個体や農場の定期的抗体検査が必要になる。生ワクチンは不活化ワクチンに比べ1回の接種で十分な免疫が得られるため、手間やコスト面において有利であるが妊娠牛には接種禁忌である。BVDVによる死流産は初妊娠牛での発生報告が多いことから、初回人工授精3週間前までの生ワクチン接種が推奨される。そして、近年は2型の発生報告が増加しているため、平成25年に承認された2型の入った6種混合生ワクチン接種の推奨を検討していきたい。

#### 【参考文献】

- ・ S.Vilcek. et al. : 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)
- ・ 加藤肇ら：牛ウイルス生下痢ウイルスワクチンによる中和抗体価維持期間に関する調査.日獣会誌.63;33-37.(2010)
- ・ 伊藤麻子ら：牛ウイルス生下痢病および牛伝染性気管炎に対する市販混合ワクチン接種プログラムの中和抗体応答による評価.日獣会誌.61;39-42.(2008)
- ・ Victor S:Bovine virus diarrhea virus vaccine, Large Animal Internal Medicine, Smith BD ed, 4th ed, 1603-1605 Mosby Inc, St Louis(2008)