

1 はじめに

ロタウイルスは人や家畜の下痢の原因として広く世界中に分布し、ウイルスの抗原性によりA群からG群までの7群に分類さ、牛においてはA群、B群、C群による下痢が報告されている。特にC群ロタウイルス（GCR）については、ウイルス分離が極めて難しく、1991年に北海道で重篤な下痢症を示した搾乳牛から、国内初のShintoku株が分離されて以来ウイルス分離には成功していない。国内での検出は、山形県、埼玉県、富山県の3県からPCRによる検出が報告されているのみであり、GCRが関与する下痢症の疫学情報は少ないのが現状である。（図1）[1,2,3,4,5]



図 1

今回、管内の農場においてGCRが関与したと思われる成牛の下痢症が発生したので、その概要を報告する。

2 発生農場の概要および全景図

酪農経営を主体とする大規模農場で、牛舎形態はフリーバーン方式を採用し群単位で飼養している。飼養頭数は搾乳牛約220頭、乾乳牛約30頭、県外導入等の初妊育成牛約10頭、繁殖和牛等約70頭を飼育。農場は斜面に立地し、侵入路から最下段に乾乳牛舎、搾乳施設及び搾乳牛舎は中段、繁殖和牛等の牛舎は最上段に位置しており、今回の発生は牛舎①である。（図2）

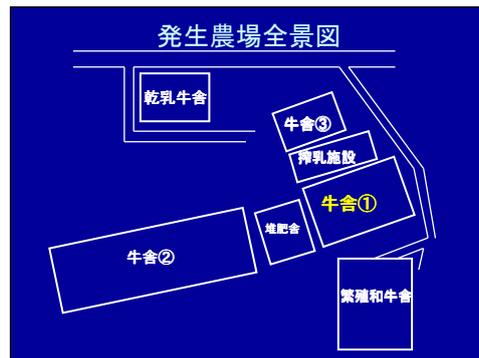


図 2

3 発生状況

平成24年6月19日、1群の搾乳牛において下痢症状が散発し、22日には全体の乳量が著しく減少。23日には、5月の平均搾乳量と比べ約1,400kg減少していた。また、下痢を呈した個体には生菌製剤等の投与を実施したが症状の改善はされず、2群への拡大傾向が確認され、当所へ連絡があり立入り検査および病性鑑定を実施した。（表1、図3）

発生状況	
平成24年6月19日	搾乳牛において下痢が散発
6月22日	乳量が著しく低下 下痢・乳量低下の個体に生菌製剤等投与
6月25日	隣接牛群に伝播しているため家保に連絡 同日、立入検査を実施
7月11日	牛群の下痢は収束傾向にあり乳量も回復

表 1

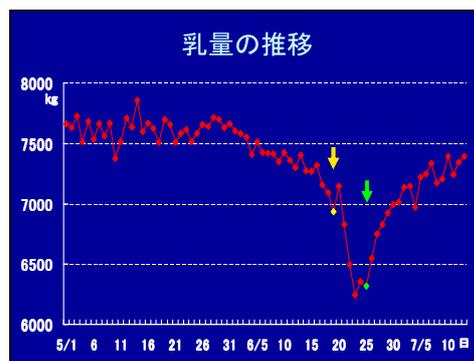


図 3

4 材料と方法

25 日の立入り検査時には、激しい下痢症状は見られず、回復傾向にあると判断し、畜主の稟告により、発症牛と推測される 20 頭前後の搾乳牛のうち、血液 7 頭、便および鼻腔スワブ 5 頭分を採取、病性鑑定の材料とした。

寄生虫検査は、糞便中の虫卵検査およびクリプトスポリジウム検査を実施。細菌学的検査は、サルモネラ検査を定法に基づき実施。ウイルス学的検査は牛下痢・粘膜病ウイルス (BVD-MD) の PCR および牛下痢 5 種マルチプレックス PCR を実施。生化学的検査は、血液一般検査を実施した。

追加検査として、今後の GCR が関与した下痢症の発生コントロールに有用であると考え、検出された PCR 遺伝子について、VP 6 及び VP7 遺伝子について系統樹解析を (独) 農業・食品産業技術研究機構 動物衛生研究所に依頼し、発生農場における汚染状況確認のため約 3 ヶ月後にウイルス遺伝子保有状況調査を実施した。(表 2、3)

方法	
寄生虫検査	虫卵検査: ショ糖浮遊法、沈殿法 クリプトスポリジウム検査: ショ糖遠沈浮遊法
細菌学的検査	サルモネラ検査 (HTT, DHL 寒天培地)
ウイルス学的検査	BVD-MD (PCR) 牛下痢ウイルス 5 種マルチプレックス PCR (PCR) (A, B, C 群ロタ、コロナ、トロウイルス)
生化学的検査	血液一般検査 (RBC, WBC, Ht)

表 2

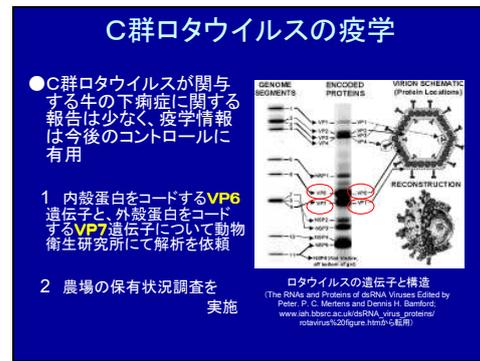


表 3

5 成績

寄生虫検査および細菌学的検査は全て陰性となり、生化学的検査についても異常値を示す個体は存在せず、ウイルス学的検査では、BVD-MD の PCR は陰性となった。牛下痢ウイルス 5 種マルチプレックス PCR では、5 頭中 3 頭の糞便から GCR のみ検出され、そのほかのウイルスについては陰性を示した。このことから、今回の下痢症は GCR が関与した下痢症であると診断した。

GCR 遺伝子が検出された 3 検体については、MA104 細胞を用いた盲継代を 4 代実施したが、ウイルス分離には至らなかった。(表 4)

ウイルス遺伝子の系統樹解析では、VP 6 及び VP 7 遺伝子ともに、人及び豚由来株からの位置関係は遠位であり、Shintoku 株や牛由来既存株と同様のクラスターに属し、ほぼ同一のウイルス株であることが判明した。保有状況調査では 258 頭の搾乳牛について全頭陰性を確認した。(表 4、5、図 4、5)

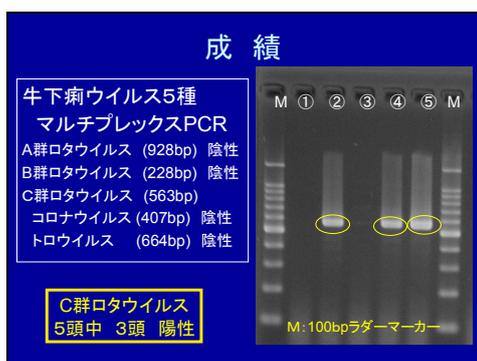


表 4

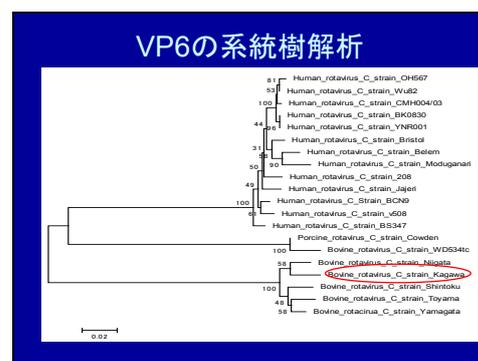


図 4

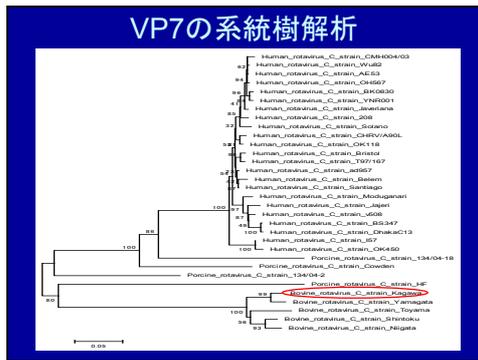


図 5

保有状況調査	
調査日	平成24年10月24日
対象牛	搾乳牛等 合計258頭
材料	直腸便
方法	20%糞便溶液 ↓ 1000×g 3分間 遠心 ↓ 上清を10検体プール → PCR
結果	全頭陰性

表 5

6 まとめ及び考察

今回、下痢症を発症した牛群からは他の病原体は検出されず、GCRのみ検出されたことから、GCRが関与した下痢症であると診断した。

また、検出遺伝子は国内分離株や既存検出株と同一のクラスターであったことから、導入牛等による農場へのウイルス侵入の可能性が否定できない状況であった。

しかしながら、保有状況調査ではGCR遺伝子の検出はされず、発症牛から排出されたウイルス汚染や、持続的に感染した個体の存在は否定され、一過性の発生であると認識されるとともに、ウイルス侵入経路については不明となった。

全国的に成牛の下痢症は一過性の発生であることが多く、GCRについても検査されていない現状であると容易に推測でき、今後の検査体制の整備とともに、発生予防としての導入牛の隔離飼育や消毒など、飼養衛生管理基準の徹底が重要であることが強く認識された事例であった。

謝辞

ウイルス遺伝子解析にあたりご尽力をいただいた（独）農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所の鈴木亨先生に深謝いたします。

参考文献

- [1] 恒光 裕ら：Journal of Clinical Microbiology vol.29 No.11, 2609-2613 (1991)
- [2] 馬渡隆寛ら：The journal of veterinary medical science 66(7), 887-890 s-x (2004)
- [3] 宮本剛志：平成23年度家畜衛生研修会（病性鑑定・ウイルス部門）事例報告抄録 50-51
- [4] 多勢景人：平成24年度家畜衛生研修会（病性鑑定・ウイルス部門）事例報告抄録 39-40
- [5] 宮本剛志：平成24年度家畜衛生研修会（病性鑑定・ウイルス部門）事例報告抄録 41