

年間を通じて繁殖障害が継続した1酪農家の病性鑑定事例

県央家畜保健衛生所

近内 将記 平野 幸子
矢島 真紀子 小菅 千恵子
仲澤 浩江 英 俊征

はじめに

牛の後天性繁殖障害の原因は感染性及び非感染性に大別される。繁殖障害に関わる感染性疾患は16疾患あり、その中で季節性なく、幅広い妊娠期間で生じる感染性疾患は牛ウイルス性下痢症（以下、BVD）及びネオスポラ症などが挙げられる¹⁾。今回、1つの酪農家で年間を通じて繁殖障害が継続し、その繁殖障害の原因に複数の感染症が関与していた事例と遭遇したため、その概要を報告する。

臨床経過

飼養頭数約40頭の酪農家で2020年秋ごろに流産2例（胎齢約50日）が発生し、2021年4月に不受胎1例（人工授精後約60日）、5月に流産1例（胎齢約120日）が発生した。5月には更に流産1例（胎齢約160日）が確認されたため、病性鑑定1例目に供した。また、直近2カ月間で3回の繁殖障害を受けて、BVDVの持続感染牛（PI牛）の摘発に関わる検査を実施した。2021年11月には流産2例（胎齢約120日、約210日）が発生し、それぞれを病性鑑定2例目及び3例目に供した。

材料と検査方法

1 材料

病性鑑定1例目は2021年5月の流産母牛及び直近で繁殖障害を呈した母牛2頭の計3頭の血清を用いた。また、PI牛の摘発に関わる検査ではBVDV抗原ELISA陽性の子牛及びその母牛の血清を用いた。病性鑑定2例目は流産胎仔（胎齢約120日）、流産母牛（5月に胎齢約120日）

流産した母牛と同一個体）及び同居牛 2 頭の計 3 頭の血清、流産母牛の膣スワブを用いた。病性鑑定 3 例目は流産胎仔（胎齢約 210 日）、流産母牛の血清及び膣スワブを用いた。

2 検査方法

(1) 病理学的検査

病性鑑定 2 例目及び 3 例目の流産胎仔について、常法のとおりに剖検を実施した。また、流産胎仔の全身諸臓器について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法のとおりにパラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。更に、ネオスポラ抗体を用いた免疫組織学的染色を実施した。

(2) 細菌学的検査

病性鑑定 2 例目及び 3 例目の流産胎仔、流産母牛の膣スワブについて、血液寒天培地、DHL 寒天培地、E S II 培地及びスキロー培地を用い、常法のとおりに実施した。

(3) 寄生虫学的検査

病性鑑定 1 例目及び 2 例目の流産母牛の血清、病性鑑定 2 例目の胎仔胸水について、ネオスポラの間接蛍光抗体法を常法のとおりに実施した。

(4) ウイルス学的検査

流産母牛、同居母牛、BVDV 抗原 ELISA 陽性子牛の母牛及び BVDV 抗原 ELISA 陽性の子牛の血清について、BVDV (Nose 株、KZ-91 株) 及び MDBK 細胞を用い常法のとおりに中和試験を実施した。また、病性鑑定の 2 例目及び 3 例目の流産胎仔について、MDBK 細胞を用いたウイルス分離 (3 代継代) を実施した。

(5) 遺伝子学的検査

病性鑑定 2 例目及び 3 例目の流産胎仔について、PCR 法により、ペスチウイルス特異遺伝子検索を実施した。さらに、ペスチウイルス特異遺伝子が検出された場合は制限酵素 (*Pst* I) 処理を実施した。

結果

1 外貌・剖検所見

流産胎仔に体形異常及び中枢神経系の形成異常は認められなかった (写真 1、2)。



写真1 病性鑑定2例目の流産胎仔の外貌



写真2 病性鑑定3例目の流産胎仔の外貌

2 病理組織学的検査

病性鑑定2例目では流産胎仔にネオスポラのタキゾイトを伴う非化膿性炎症（舌、大腿筋、脳）を認めた（写真3、4）。また、腎臓にはネオスポラのシストを認めた。病性鑑定3例目ではネオスポラなどの流産に関わる感染症を示唆する所見は認められなかった。

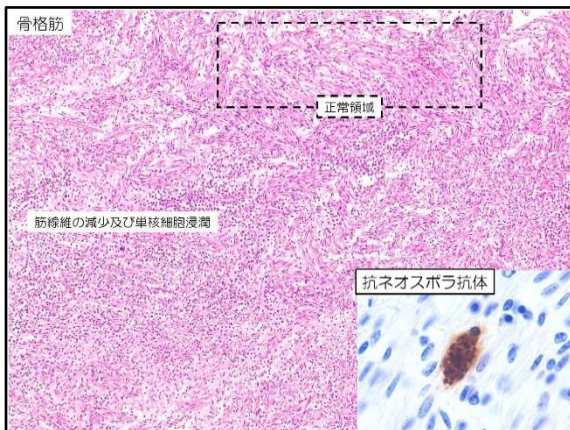


写真3 病性鑑定2例目の非化膿性筋炎

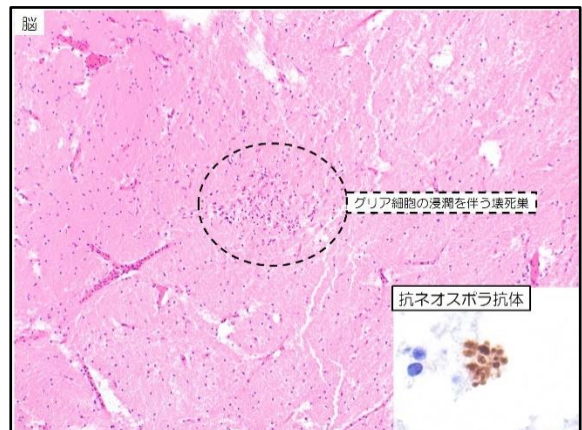


写真4 病性鑑定2例目の非化膿性脳炎

3 細菌学的検査

病性鑑定2例目及び3例目の膣スワブから *Aerococcus urinae* が分離された。流産胎仔から有意菌はいずれも分離されなかった。

4 寄生虫学的検査

ネオスポラの間接蛍光抗体法において、病性鑑定1例目では流産母牛3頭中1頭で陽性を示した。病性鑑定2例目では流産母牛で陽性を示したが、流産胎仔の胸水は陰性を示した（写真5）。

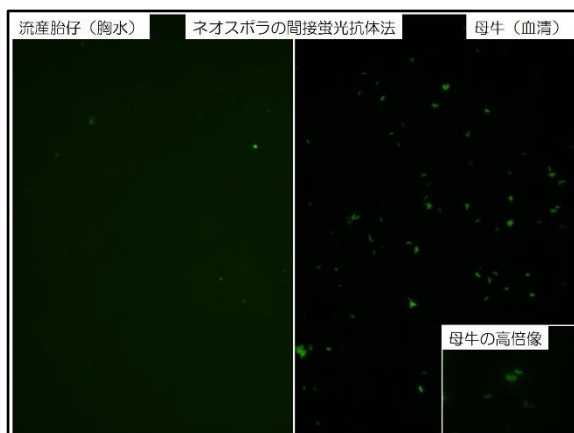


写真5 病性鑑定2例目のネオスポラIFA

5 ウイルス学的検査

BVDVの中和試験において、病性鑑定1例目は1型で3頭中3頭に抗体価の上昇を認め、2型は1頭に抗体価の上昇及び1頭に抗体の保有を認めた。また、PI牛の摘発に関わる検査ではBVDV抗原ELISA陽性の子牛で抗体の保有を認められず、母牛では抗体の保有を認めた。病性鑑定2例目及び3例目では流産母牛及び同居牛で抗体価の上昇を認めたが、post血清の採材前にBVDVのワクチンを接種していた可能性があり、ワクチン抗体を含む可能性があった(表1)。

ウイルス分離において、病性鑑定3例目及びBVDV抗原ELISA陽性の子牛からBVDV2型が分離され、病性鑑定2例目でウイルスは分離されなかった。

表1 牛の個体情報とBVDV中和試験結果

病性 鑑定	個体 番号	臨床事項	BVDV			
			1型		2型	
			Pre (採材月)	Post (採材月)	Pre	Post
1例目	No.1	・4/26不発胎 (給胎約90日) の母牛	<2 (20年11月)	×1024 (21年5月)	<2	×512
	No.2 -1	・5/7不発胎 (給胎約120日) の母牛	<2(同上)	×256(同上)	<2	<2
	No.3	・5/24流産 (給胎約160日) の母牛	×32(同上)	×1024(同上)	×32	×32
	No.4	・21年5月に BVDV抗原 ELISA陽性子牛	<2 (21年5月)	<2 (21年6月)	<2	<2
	No.5	・No.4の母牛	NT	×2048 (21年5月)	NT	×512
2例目	No.2 -2	・11/16流産 (給胎120日) の母牛	×256 (No.2-1 Post)	×128 (21年11月)	<2	×32
	同居A	・No.2-2の流産 時に落着き無し	×16 (20年11月)	×256(同上)	×64	×256
	同居B	・牛欄がNo.2の産 ・11/20流産	<2(同上)	×512(同上)	×2	×128
	No.6	・11/20流産 (給胎約210日)	<2(同上)	×512(同上)	×8	×64
3例目						
✓ 1型は20年11月時に2/6 頭で2倍以上、21年5月の時点で顕著な上昇						
✓ 2型は20年11月時に4/6 頭で2倍以上、21年11月には顕著な上昇						

6 遺伝子検査

PCR法によるペスチウイルス遺伝子検索において、病性鑑定3例目及びBVDV抗原ELI

S A陽性の子牛からペスチウイルス特異遺伝子が検出され、制限酵素処理を実施した結果、B V D V 2型と判定された。

以上の結果から、病性鑑定1例目はB V D Vによる流産疑い、病性鑑定2例目はネオスポラ症、病性鑑定3例目はB V D Vによる流産と診断した（図1～4）。

【病性鑑定1例目（21年5月、胎齢170日）の結果】

- 母牛の中和試験

個体番号	臨床事項	BVDV			
		1型		2型	
		Pre	Post	Pre	Post
No.1	5/24流産 (胎齢約170日)	×32	×1024	×32	×32
No.2	4/26不受胎 (人工授精後約60日)	<2	×1024	<2	×512
No.3	5/7流産 (胎齢約120日)	<2	×256	<2	<2

⇒ 1型は全頭で、2型は2頭で抗体上昇・保有を認める

- 寄生虫学的検査
ネオスポラ間接蛍光抗体法…陽性：No.3
陰性：No.1、2

⇒ BVDVによる流産を疑うと診断

* 胎児及び胎盤の検査は未実施

図1 病性鑑定1例目の結果

【持続感染牛の摘発に関わる検査の結果】

- BVDV抗原ELISA
母牛を4頭、子牛を2頭実施し、子牛1頭で陽性
⇒ 翌月の再検査で陽性を確認
- 中和試験

個体番号	臨床事項	BVDV			
		1型		2型	
		Pre	Post	Pre	Post
No.4	21年5月に BVDV抗原 ELISA陽性子牛	<2	<2	<2	<2
No.5	No.4の母牛	NT	×2048	NT	×512

⇒ 子生では抗体を認めず、母生は抗体を保有

- ウイルス分離
子牛の血清及び白血球処理液を用いた培養：BVDV2型の分離

⇒ BVDV2型の持続感染牛（PI牛）と診断

※ 以降、9月及び10月にPI牛疑いで計4頭の淘汰

図2 持続感染牛の摘発に関わる結果

【病性鑑定2例目（21年11月、胎齢約120日）の結果】

- 病理学的検査
胎仔でネオスポラのタキゾイトを伴う非化膿性炎症（舌、骨格筋、脳）
- 寄生虫学的検査
ネオスポラIFA…母牛：陽性 胎仔：陰性
- PCR検査
胎仔乳剤のBVDV遺伝子：検出限界以下
- ウイルス分離
胎仔乳剤を用いた培養：未分離
- 中和試験

個体番号	臨床事項	BVDV			
		1型		2型	
		Pre	Post	Pre	Post
No.2-2	11/16流産 (胎齢120日)	×256	×128	<2	×32
同居A	No.2-2の流産時に 落着き無し	×16	×256	×64	×256
同居B	牛舎がNo.2の隣	<2	×512	×2	×128

⇒ 抗体価の顕著な上昇（Postにワクチン抗体を含む可能性あり）

⇒ ネオスポラによる流産と診断

図3 病性鑑定2例目の結果

【病性鑑定3例目（21年11月末、胎齢約210日）の結果】

- PCR検査
胎仔臓器乳剤：BVDV2型の遺伝子を検出
- ウイルス分離
胎仔臓器乳剤を用いた培養：BVDV2型を分離
- 母牛の中和試験（個体番号：No.6）

	BVDV			
	1型		2型	
	Pre	Post	Pre	Post
	×16	×512	×8	×64

⇒ 抗体価の顕著な上昇を確認（Postにワクチン抗体を含む可能性あり）

- 病理学的検査
流産胎仔にネオスポラなど流産に関わる感染症の所見は認めず

⇒ BVDV2型による流産と診断

図4 病性鑑定3例目の結果

まとめ及び考察

今回、1つの酪農家で2020年秋ごろに流産2例（胎齢約50日）が発生し、2021年4月に不受胎1例（人工授精後約60日）、5月に流産2例（胎齢約120日、160日）が発生した。2021年11月には流産2例（胎齢約120日、約210日）が発生し、年間を通じて繁殖障害が継続した。その中で流産3例の病性鑑定及びPI牛の摘発に関わる検査を実施した。その結果、病性鑑定1例目はBVDVによ

る流産疑い、病性鑑定 2 例目はネオスポラ症による流産、病性鑑定 3 例目は BVDV による流産、子牛 1 頭は P I 牛と診断した（図 5）。

BVDV 及びネオスポラ症の繁殖障害は季節性なく、幅広い妊娠期間で発生し、特に感染胎齢と病態発生に関連性があると知られている。BVDV では胎齢約 70 日から 120 日までに感染すると持続感染牛として、胎齢 120 日から 160 日までに感染すると水頭無脳症や小脳低形成など脳の形成異常を伴う異常産として、それ以降の胎齢の感染では抗体を保有する健康牛として生まれてくる可能性がある²⁾。一方、ネオスポラ症では胎齢 140 日齢以降の感染で多くの場合が潜伏感染牛となり、一部の子牛では神経症状を呈する場合がある³⁾。

BVDV の侵入時期は、繁殖障害が発生し始めた 2020 年 11 月には複数の母牛で BVDV の抗体の保有していたこと、摘発された P I 牛は 2021 年 2 月末生れであったことを考慮すると、2020 年 11 月以前であることが示唆された。ウイルスの侵入経路には牛の移動や自然伝播などが挙げられるが、母牛の導入状況や預託状況などを把握することが困難であったため、侵入経路の特定には至らなかった。

ネオスポラの侵入時期は、2021 年 5 月時点でネオスポラ症により流産した母牛に抗体の保有を認めたこと、発生農場ではネオスポラ症の発生歴はないがタヌキの侵入が以前にあったことを考慮すると、2021 年 5 月以前もしくは垂直感染による潜伏感染が示唆された。

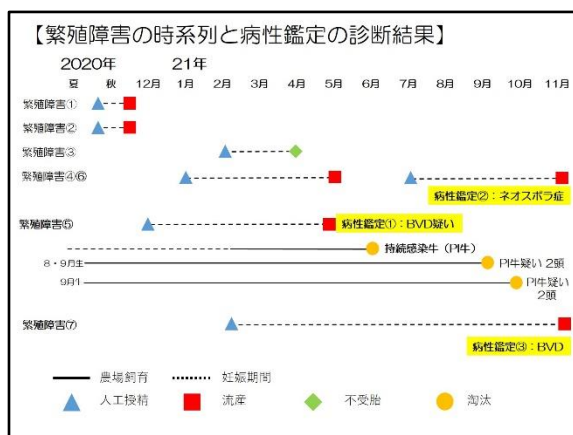


図 5 繁殖障害の時系列と病性鑑定の診断結果

引用文献

- 1) 病性鑑定マニュアル第 4 版、全国家畜衛生職員会（2016）
- 2) 長井誠：牛病学第 3 版、219-222、近代出版（2013）

3) 西川義文：牛病学第3版、332-335、近代出版（2013）