

# 牛ウイルス性下痢ウイルス感染症の地域的な 対策事例と効果の検証

斎野 仁<sup>1)†</sup> 川内京子<sup>1)</sup> 白井 章<sup>2)</sup> 大野 浩<sup>2)</sup>  
 迫田義博<sup>3)</sup> 田島誉士<sup>4)</sup>

- 1) 北海道根室家畜保健衛生所 (〒086-0214 野付郡別海町別海緑町69)
- 2) 北海道獣医師会根室支部 (〒086-1105 標津郡中標津町西5条南11-5)
- 3) 北海道大学大学院獣医学研究科 (〒060-0818 札幌市北区北18条西9)
- 4) 酪農学園大学獣医学群 (〒069-8501 江別市文京台緑町582)

(2013年5月28日受付・2013年8月30日受理)

## 要 約

根室地域B町で2006年から、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 感染症 (BVD) の対策を開始し、毎年、すべての育成牛にBVDの生及び不活化ワクチンを接種 (LK方式) した。さらに汚染源である持続感染 (persistent infection : PI) 牛の摘発のため880戸の全酪農場のバルク乳のRT-PCR検査と公共牧場全頭のBVDV分離を毎年実施した。LK接種42カ月経過後で抽出検査した血清の90%がBVDVに対する抗体を保有した。6年間のバルク乳検査でPI牛56頭を摘発・淘汰し、2012年には2頭に減少した。さらに公共牧場で12,349頭を検査し7頭 (0.06%) のPI牛を摘発・淘汰した。対策開始後のPI牛の出生率は有意に減少し、2008年以降にLK方式ワクチン接種による胎子感染防止効果が確認された。以上から、ワクチン接種とPI牛の積極的サーベイランスでBVDの制圧が可能と判断した。

——キーワード：牛、BVD、遺伝子型、ワクチン。

----- 日獣会誌 66, 791~796 (2013)

非細胞病原性 (NCP) の牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) が、胎齢120日齢以前の免疫形成過程の牛胎子に感染すると、胎子はウイルスを自己の組織と誤認し (免疫寛容) 免疫作用が働かずウイルス血症を生じ持続する持続感染 (persistent infection : PI) 牛として出生する。PI牛は同居牛への感染源となり [1]、牛群の感染抵抗性の低下、増体量の減少、産乳量の減少、繁殖障害などの経済的損失をもたらすことが報告されている [2-4]。

わが国では、1998年に家畜伝染病予防法でBVDV感染症 (BVD) が届出の必要な疾病として指定され、家畜防疫対策要綱で、PI牛の自主的な淘汰と発生地域のワクチン接種による流行予防が対策の基本方針として示された。

国内では、NCP・BVDVを弱毒化した生ワクチンが使用されていたが、2005年、BVDVの1型と2型を含む妊娠牛に使用可能な不活化ワクチンが市販され、中和

抗体の誘導による効果が確認された [5]。また、PI牛のサーベイランスに、モノクローナル抗体を用いた免疫染色法 [6] や、ウイルス遺伝子を検出する逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法 [7] の応用が報告されている。

しかし、これまでワクチン接種とPI牛の積極的サーベイランスを併用した地域的な対策の成績は報告がない。そこで、今回、北海道の一部の地域で、生ワクチンと不活化ワクチンを組み合わせた接種プログラムとPI牛の積極的サーベイランスと早期の淘汰を骨子とした対策を行い、その効果についての検証を行った。

## 材料及び方法

**PI牛の積極的サーベイランスと淘汰：**北海道根室地域の酪農地帯にあるB町 (乳用牛約880戸10万頭飼養) で、すべての酪農場のバルク乳を用い、Kozasaら [7] の方法に基づき、RT-PCR法によるBVDVのサーベイ

† 連絡責任者 (現所属) : 斎野 仁 (北海道空知家畜保健衛生所)

〒079-0181 岩見沢市岡山町12番地37

☎0126-22-4212 FAX 0126-23-9676

E-mail : saino.hitoshi@pref.hokkaido.lg.jp

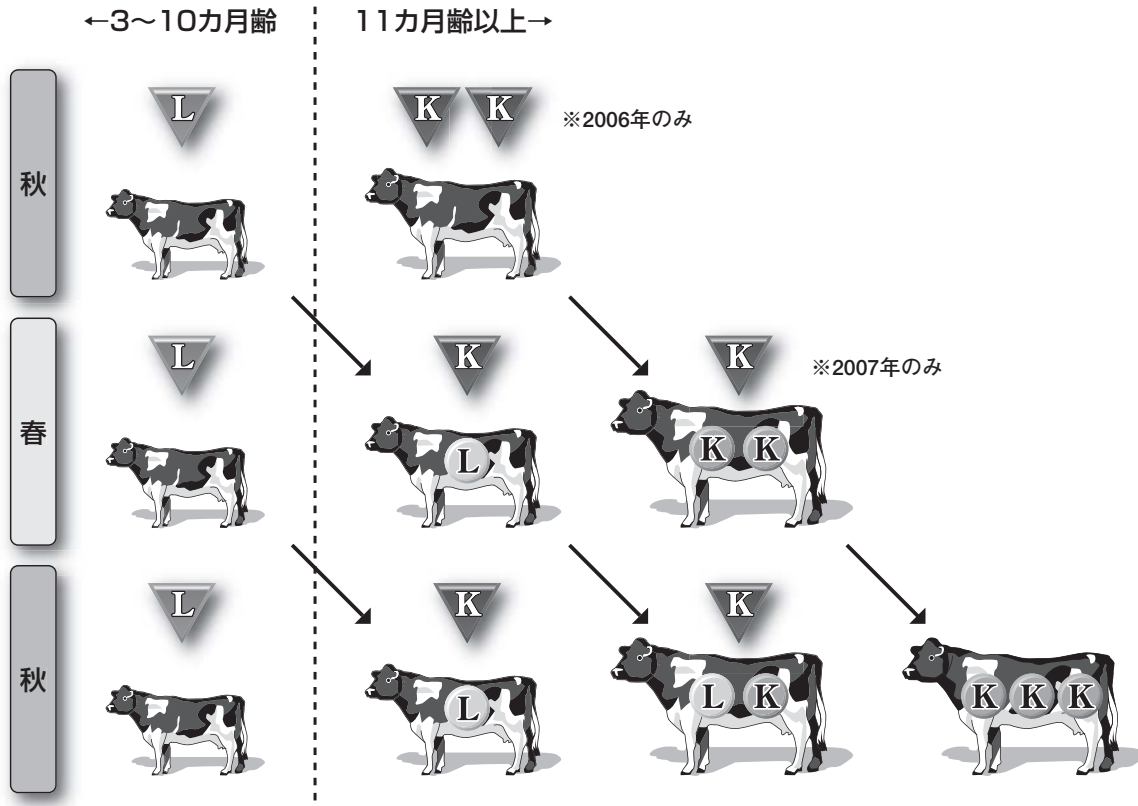


図1 LK方式によるワクチンプログラム

毎年、春と秋（6カ月間隔）に、3～10カ月齢の牛には5種混合生ワクチン（L）を、11～24カ月齢の牛には5種混合不活化ワクチン（K）を接種した。図中の※は対策開始時点（2006年秋）でLが未接種の11～24カ月齢の牛には、1カ月間隔でKを2回接種（基礎免疫）し、翌年の2007年春にKを1回接種（補強免疫）したことを示す。

ランスを、2006～2010年（2008年は未実施）までは年1回、2011年以降は年2回実施しPI牛を摘発した。また、2007年から、BVDVの感染拡大のリスクが高い公共牧場の放牧牛全頭の血清を用い、Sainoら [6]の方法に基づき牛胎子筋肉細胞によるウイルス分離と免疫染色法（IPO法）を用いPI牛を摘発した。摘発された農場は、飼養牛全頭（同居牛）と以降6カ月間に生まれるすべての子牛（新生子牛）の血清、白血球を用い、RT-PCR法によるスクリーニングとIPO法でPI牛の有無を確認した。これら摘発されたPI牛は、農場が自主的に速やかに淘汰した。

**ワクチンの接種：**B町の10万頭の牛全頭に毎年基礎と補強のBVDV不活化ワクチンを接種する方法は獣医師数の不足から困難と判断した。そこで、BVDV 1型のみ抗原として含む生ワクチンとBVDV 1型と2型の両方の抗原を含む不活化ワクチンを組み合わせ、毎年、2万頭の育成牛全頭に接種することにより、年ごとにワクチン接種済みの牛群が増加する方法とした。全農場を6カ月ごと（春と秋）に訪問し、3～10カ月齢の育成牛群には生ワクチンを、11～24カ月齢の育成・初妊牛群には不活化ワクチンを接種した。これを毎年繰り返し行い、育成牛に対して6カ月間隔で生ワクチン（L）-不活化ワ

クチン（K）-不活化ワクチン（K）を3回接種（L-K-K）することを基本とするプログラム（LK方式）とし、2006年10月から開始した。ただし、初回の訪問時のみ、11～24カ月齢のLが未接種の初妊牛群には、1カ月間隔でのKの基礎免疫2回と6カ月後の補強免疫1回で対応した（K-K-K）（図1）。

**効果の検証：**LK方式によるワクチン抗体の持続性の検証のため、モニタリング農場10戸を選定し、毎年、1農場につき10、24、36、48、60カ月齢の牛各3頭、総計150頭を抽出し血清採取した。これを2006年から6年間継続し、BVDV 1型はNOSE株、BVDV 2型はKZ-91CP株を用い血清中和反応法で抗体保有状況を調べた。中和抗体価で2倍未満と判定された血清を抗体陰性とした。また、L-K接種6カ月後の4頭の血清を用い、B町で分離されたBVDV 15株（遺伝子型1a、1b、1cの各5株）で血清中和反応法により抗体価を測定した。各遺伝子型の抗体価を2を底とした対数変換後に平均値を算出し、Tukeyの多重比較検定法で反応性を比較した。

ワクチン接種と積極的サーベイランスの併用による効果の検証のため、導入牛を除くPI牛の生年別の摘発数を調査し、対策開始前後3年間のPI牛の出生率を $\chi^2$ 検

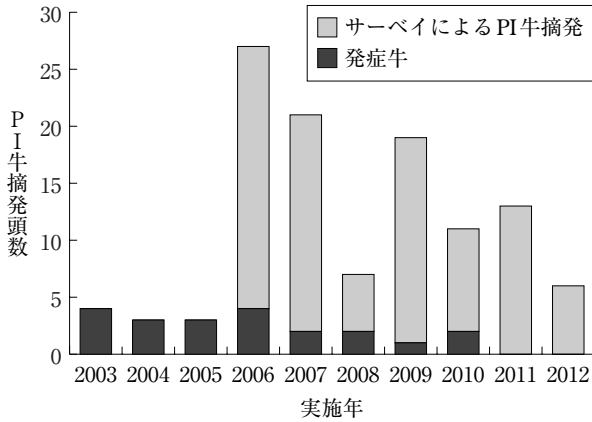


図2 北海道B町で摘発されたPI牛頭数の推移  
全戸のバルク乳（2008年を除く）と公共牧場放牧牛及び発症農場の同居牛と新生子牛の血清を用いた積極的サーベイランス検査と、発症牛のウイルス学的検査でPI牛を摘発した。

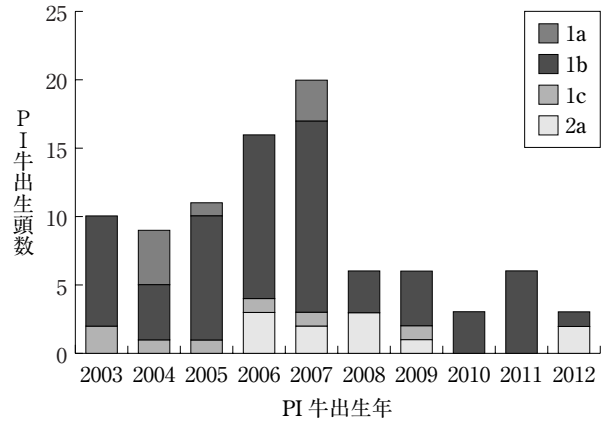


図4 PI牛の出生年別摘発頭数と分離されたBVDVの遺伝子型  
導入牛を除く摘発したPI牛の頭数を出生年別に示した。また、PI牛から分離されたBVDVの遺伝子型の内訳を示した。

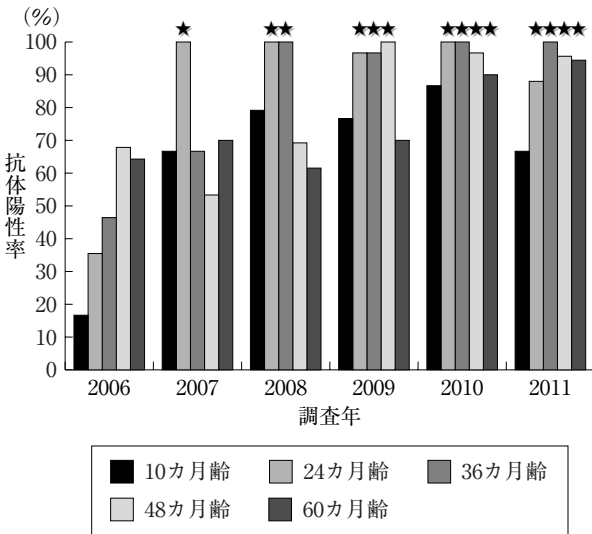


図3 モニタリング農場でのBVDV1型に対する抗体保有状況  
10戸の農場から各月齢の牛3頭ずつランダムに選択し、BVDV中和抗体価を測定した。各年の抗体保有牛の割合を示した。図中の★は育成期にLK方式のワクチン接種を受けた牛群を示す。

定法で比較した。また、2003年以降にB町のPI牛から分離された108株のBVDVの遺伝子型別をMatsunoら[8]の方法で行い、PI牛の出生年別の推移について調査した。

LK方式による胎子感染予防効果の検証のため、摘発したPI牛の母牛について、種付けした日から30日以上前のLK方式のワクチン接種の有無と使用ワクチンの種類を調査し、ワクチン接種母牛群と非接種母牛群間でのPI牛の出産率をFisherの正確確率検定法で比較した。

### 成 績

**積極的サーベイランスによるPI牛の摘発：**2006～2012年の6年間の積極的サーベイランスで計93頭のPI牛を摘発し淘汰した。その内、56頭はバルク乳検査で摘発し、2006年21頭、2007年9頭、2009年11頭、2010年7頭、2011年6頭、2012年2頭（2008年は検査未実施）と年々減少した。公共牧場では6年間で12,349頭を検査し、2007年1頭、2008年1頭、2009年3頭、2010年0頭、2011年1頭、2012年1頭の計7頭（0.06%）のPI牛を摘発した。PI牛摘発農場の同居牛5,214頭で18頭（0.4%）、新生子牛1,448頭で12頭（0.8%）のPI牛を摘発した。積極的サーベイランス以外で発症して発見されたPI牛は、2003～2006年には年間3～4頭であったが、2007年以降は減少し、2011年からは確認されなかった。PI牛の検査年別の摘発頭数は、積極的サーベイランスを開始した2006年に27頭に増加したが、2012年には6頭に減少した（図2）。

**LK方式ワクチンに係る検証：**モニタリング農場でのBVDV 1型に対する6年間の中和抗体保有率の推移を月齢ごとに図3に示した。図中の星印がワクチン接種群で、2007年に24カ月齢の群は、2008年には36カ月齢群へと順次移動していく。LK方式ワクチン接種群の増加に連動し抗体陽性率は上昇した。LK方式でワクチン接種後、3年6カ月（42カ月）経過した2010年の60カ月齢牛群で90%が抗体を維持し、BVDV 2型に対しても同様であった。平均抗体価は、L-K接種後6カ月で1型：856.0、2型：21.1、3年6カ月後で1型：445.7、2型：14.6であった。調査期間中、調査農場のバルク乳はすべてBVDV陰性であった。この結果からLK方式によるBVDVに対する抗体の持続が確認された。

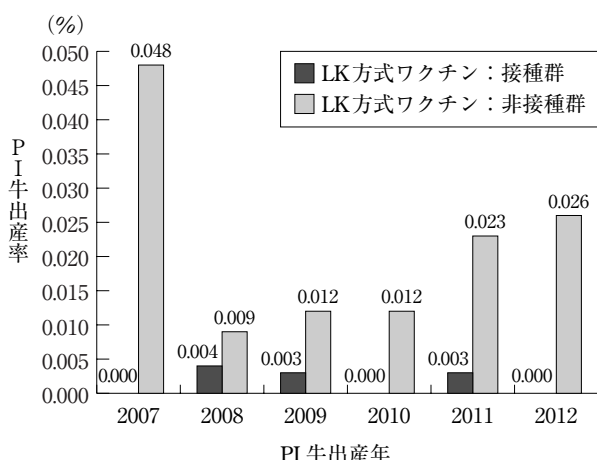


図5 LK方式ワクチン接種及び非接種母牛群の年別のPI牛出産率

PI牛の生年別に母牛のLK方式のワクチン接種歴を調査し、各年のB町で出産したワクチン接種母牛群と非接種母牛群に対するそれぞれのPI牛の母牛頭数の割合をPI牛出産率として示した。

B町で分離されたBVDVに対するL-K接種6カ月後の平均抗体価は、遺伝子型1aで2272.4、1bで477.7、1cで57.7で反応性に有意な違いを認め、ワクチン株と同じ遺伝子型の1aが1b及び1cに対し高い値を示した(対数変換後のTukeyの多重比較検定、 $P < 0.01$ )。

**積極的サーベイランスとLK方式ワクチン接種の併用についての検証：**摘発されたPI牛の内、導入牛を除くB町内で感染したPI牛の生年別の頭数と遺伝子型の内訳を図4に示した。2008年以降はPI牛の出生頭数が減少した。対策を開始した2006年10月を起点とし、前後3年間に種付けし生まれたPI牛の頭数と全出生頭数(1年1産として乳用繁殖雌牛の頭数)との割合をPI牛の出生率として比較すると、開始前が0.021% (51/248,443)、開始後が0.009% (20/235,605)で、有意な減少を確認した( $\chi^2$ 検定、 $P < 0.01$ )。遺伝子型では、対策開始前後ともに1bのBVDVに感染したPI牛が多数を占めた。一方、2008年以降、1aに感染したPI牛は確認されなかった。

**LK方式ワクチン接種の胎子感染予防についての検証：**摘発したPI牛の内、2008年以降に生まれた6頭の母牛が種付け前にワクチン接種されており、L-K-Kが1頭、L-Kが1頭、K-Kが2頭、Lが2頭であった。分離されたBVDVの遺伝子型は1bが4頭、2aが2頭で、L-K-Kが1b、L-Kが1b、K-Kが1bと2a、Lが1bと2aであった。なお、上述のL-Kが接種されたPI牛の母牛1頭は、母牛自体も子牛と同様にPI牛であった。

各年ごとにB町で出産した母牛頭数に対するPI牛の出産母牛頭数の割合をPI牛の出産率とし、LK方式ワクチン接種(Vac+)母牛群と非接種(Vac-)母牛群別

に比較し図5に示した。Vac+の母牛が分娩を開始した2008年以降は、Vac-の母牛頭数が年々減少していくが、逆にPI牛の出産率はVac-母牛群で増加した。2008～2010年のPI牛の出産率はVac+母牛群が0.002% (4/170,805)、Vac-母牛群が0.011% (11/104,472)で、Vac+母牛群のPI牛の出産率が有意に低かった(Fisherの正確確率検定、 $P < 0.01$ )。なお、2011年以降に生まれた牛群はバルク乳検査が未受検のため、統計計算上は対象外とした。

## 考 察

スイス、スウェーデン、オーストリアでは、国家単位でBVDVの根絶計画を進めており、スウェーデンでは2011年の1頭を最後に発生は認められていない[9]。しかし、国によって、農場の密度、飼養形態やBVDVの浸潤状況は異なり、国家単位の根絶には被害・経費の試算と戦略が欠かせない。BVDVと同属で急性の悪性伝染病を起こす豚コレラウイルスは、血清学的にBVDVと交差し、BVDVが豚に感染した事例もある[10]。わが国は2007年に豚コレラの清浄国となったが、第1段階とし1996年から3年間ワクチンを全頭接種して抗体の付与を試みた後、2000年に全国的にワクチン接種を中止したが、その後本病の患者は確認されていない。

今回のワクチン接種とPI牛淘汰の強化を中心とした地域単位でのBVD対策は、被害を低下させることを目的とし、農場が自主的に行うことを前提としている。全農場と関係者がこの目的を共通で認識したことが、組織的に対策を継続し、効果が得られた重要なポイントと考えられる。B町では、本対策の開始前に、対象とする全農場にリーフレットを用いBVDの病性と対策の必要性を説明し承諾を得るとともに、PI牛の淘汰に係る見舞金を農場に支払う制度を2006年から開始した。都道府県や国単位でBVDVの根絶に向けた対策を行う場合には、事前に生産者の理解を得ることとPI牛の淘汰による農場の経済的負担を軽減する方策の検討が必要と考える。

LK方式のワクチン接種とPI牛の積極的サーベイランス(バルク乳検査、公共牧場放牧牛検査、発生農場の同居牛と新生子牛検査)・淘汰との併用により、牛群の中和抗体の保持と対策開始後のPI牛の出生の減少が確認された。一方、根室地域外からの導入牛の産子でPI牛が摘発され、清浄性の維持には導入牛と産子の検査が必要なが明らかとなった。これらの結果から、地域単位でワクチン接種とPI牛の積極的サーベイランス・淘汰を併用する方法は、BVDVの流行を阻止し農場の経済的損失を軽減しながら、PI牛を減少させる方法として有効で、国家単位での根絶に向けた第1段階としても応用が可能と考える。

アメリカではRT-PCR法による検査で農場レベルのBVDの有病率が1.7～15%との報告がある [11]。齋野ら [1] は1987年の北海道石狩地域に飼養されている乳用育成牛のPI牛調査では、0.5% (1/224)であったと報告している。今回、公共牧場の乳用育成牛では、PI牛の摘発率が0.06% (7/12,349) と低かった。B町では、古くから公共牧場への入牧前にBVDワクチン接種を義務化しており、公共牧場内の妊娠牛間の流行と農場へのPI牛拡散が抑制されていたことが考えられる。

育成牛にLK方式によるワクチン接種を開始した後、3年を経過した2009年には、ワクチン接種牛がB町飼養牛の60%を超え、2013年以降もLK方式のワクチン接種と積極的サーベイランスを継続している。今回の検証でVac-母牛群と比較しVac+母牛群でPI牛の出産率が低いことが明らかとなり、LK方式のワクチン接種による胎子感染予防効果が確認された。今後、B町ではワクチン接種牛の割合がさらに増加することから、新たなPI牛の出生は減少していくと見込まれた。今回の疫学的検証には、B町が2006年に開発し運用を開始した「ワクチン接種履歴確認システム（獣医師が個体識別番号でインターネットから照会できるデータバンク）」を使用した。現在、牛の移動は広域にわたり、ワクチン接種による対策やその疫学的評価を行う場合には同様のシステムの導入が有用と考える。

国内の生及び不活化ワクチンに含まれる1型の抗原は1aであり、1bとは異なる抗原性で [12]、現行のワクチンは1bのBVDVに対して有効性が低い可能性も指摘されている [8, 13]。今回、B町で分離された1a, 1b, 1cのBVDV各5株に対するL-K接種後の抗体価でも1aで有意に高い値を示した。2008年以降はB町内で1aのBVDVに感染したPI牛の出生は確認されておらず、ワクチン接種された母牛から生まれたPI牛は6頭中4頭が1bであった。B町では対策開始前後ともに1bが多数を占めており、今後も遺伝子型の推移を注視する必要があると考える。

現在、B町を含め根室地域すべての市町が全頭のワクチン接種を、また、2町がバルク乳を用いたBVDVサーベイランスを併用して対策を継続している。健康な牛の生産を担う地域としての責任感が、これら対策を推進する大きな原動力となっている。将来、国内で根絶計画が立ち上がるかは予測できないが、BVDVの流行やPI牛の存在で受ける受胎、乳量、牛群の免疫低下による被害を金額等のデータとして積算することが今後必要と考える。

最後に、これら対策を推進している根室地域の各家畜自衛防疫組合と関係獣医師の皆様に敬意を表したい。

## 引用文献

- [1] 齋野 仁, 渡辺卓俊, 青木仁久, 三上祐二, 山口 勲, 松田敬司: 北海道石狩地区における牛ウイルス性下痢・粘膜病 (BVD-MD) ウイルス持続感染牛の疫学調査と分離ウイルスの血清学的性状, 日獣会誌, 42, 324-328 (1989)
- [2] Hessman BE, Fulton RW, Sjeklocha DB, Murphy TA, Ridpath JF, Payton ME: Evaluation of economic effect and the health and performance of the general cattle population after exposure to cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in a starter feedlot, *Am J Vet Res*, 70, 73-85 (2009)
- [3] Heuer C, Healy A, Zerbini C: Economic effect of exposure to bovine viral diarrhoea virus on dairy herds in New Zealand, *J Dairy Sci*, 90, 5428-5438 (2007)
- [4] 田島誉士: 牛ウイルス性下痢感染症, 日獣会誌, 65, 111-117 (2012)
- [5] 伊藤麻子, 迫田義博, 亀山健一郎, 山崎幸夫, 白井 章, 喜田 宏: 牛ウイルス性下痢病及び牛伝染性鼻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)
- [6] Saino H, Watanabe H, Ikehata T: Immunoperoxidase procedures for rapid detection of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus antigen, *J Vet Med Sci*, 56, 805-807 (1994)
- [7] Kozasa T, Tajima M, Yasutomi I, Sano K, Ohashi K, Onuma M: Relationship of bovine viral diarrhoea virus persistent infection to incidence of diseases on dairy farms based on bulk tank milk test by RT-PCR, *Vet Microbiol*, 106, 41-47 (2005)
- [8] Matsuno K, Sakoda Y, Kameyama K, Tamai K, Itou A, Kida H: Genetic and pathological characterization of bovine viral diarrhoea viruses recently isolated from cattle in Japan, *J Vet Med Sci*, 69, 515-520 (2007)
- [9] 関口 敏: 欧米における牛ウイルス性下痢ウイルス感染症のリスクアナリシスとコントロール, 日獣会誌, 65, 591-596 (2012)
- [10] 高久英徳, 大和田真紀, 宮根和弘, 齋野 仁, 畠間真一: 牛ウイルス性下痢ウイルス汚染豚房における牛ウイルス性下痢ウイルス感染試験, 日獣会誌, 61, 367-371 (2008)
- [11] Van Campen H: Epidemiology and control of BVD in the U.S., *Vet Microbiol*, 142, 94-98 (2010)
- [12] Nagai M, Hayashi M, Itou M, Fukutomi T, Akashi H, Kida H, Sakoda Y: Identification of new genetic subtype of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 isolated in Japan, *Virus Genes*, 36, 135-139 (2008)
- [13] 迫田義博: 牛ウイルス性下痢 (BVD) の現状と今後の課題, 日獣会誌, 60, 817-819 (2007)

Implementation and Verification of the Effectiveness of a Regional Control Program  
for Bovine Viral Diarrhea Virus Infection in Hokkaido, Japan

Hitoshi SAINO<sup>1)†</sup>, Kyoko KAWAUCHI<sup>1)</sup>, Akira USUI<sup>2)</sup>, Hiroshi OHNO<sup>3)</sup>,  
Yoshihiro SAKODA<sup>3)</sup> and Motoshi TAJIMA<sup>4)</sup>

- 1) *Hokkaido Nemuro Livestock Hygiene Service Center, 69 Betsukai-Midorimachi, Betsukai, Notsukegun, 086-0214, Japan*
- 2) *Hokkaido Veterinary Medical Association Nemuro Branch, Nishi 5, Minami 11-5, Nakashibetsu, Shibetsugun, 086-1105, Japan*
- 3) *Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Kita 18, Nishi 9, Kita-ku, Sapporo, 060-0818, Japan*
- 4) *School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Midori-machi, Bunkyo-dai, Ebetsu, 069-8501, Japan*

SUMMARY

A regional control program for *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV) was initiated in 2006 in the town of Nemuro, Hokkaido, Japan. All dairy heifers were immunized annually with live (L) and killed (K) vaccines (LK method). After 42 months of LK, 90% of cattle were seropositive, with neutralizing antibody titer for BVDV. Samples of bulk tank milk from all 880 dairy herds in the region were screened annually for BVDV through a reverse transcription polymerase chain reaction. Fifty-six persistently infected (PI) heifers were identified in the first 6 years, and the number of PI heifers then decreased every year. Virus isolation from the sera of all heifers raised in public pastures was performed annually. Seven PI animals out of 12,349 heifers were identified as being raised in public pastures, and these animals were immediately slaughtered. This program led to a decrease in the birth of PI animals, and the LK vaccination method had also protected fetuses from BVDV infection since 2008. These results indicated that this regional program based on the vaccination and slaughter of PI heifers was significantly effective as the first step in controlling BVD.

— Key words : bovine, BVD, genotype, vaccine.

† Correspondence to (Present address) : Hitoshi SAINO (Hokkaido Sorachi Livestock Hygiene Service Center)  
12-37 Okayamacyo, Iwamizawa, 079-0181, Japan  
TEL 0126-22-4212 FAX 0126-23-9676  
E-mail : [saino.hitoshi@pref.hokkaido.lg.jp](mailto:saino.hitoshi@pref.hokkaido.lg.jp)

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 66, 791 ~ 796 (2013)