

全身に出血を認めた子牛の死亡例

湘南家畜保健衛生所

駒井 圭 森村 裕之
矢島 真紀子 秋本 遼
井上 史 太田 和彦
稲垣 靖子

はじめに

2014年6月、管内酪農家において、19日齢のホルスタイン種子牛が発熱、貧血、血便の症状を呈して死亡した。同日、16日齢の交雑種(F1)子牛が同様の症状を呈し2日後に死亡した。このF1子牛について病性鑑定を実施したので概要を報告する。

発生農場

発生農場は搾乳牛65頭、育成牛30頭、子牛15頭の計110頭を飼養する酪農経営。成牛舎、育成牛舎、乾乳舎、放牧場があり、子牛は成牛舎で飼育されている。近年、後継牛は全て自家産で、預託歴、導入歴はない。ワクチンは共進会出品牛のみ6種混合ワクチン(弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルス・弱毒牛パラインフルエンザ3型ウイルス・弱毒牛RSウイルス・弱毒牛アデノウイルス7型・不活化牛ウイルス性下痢-粘膜病1型及び2型ウイルス)を接種している。飼料は乾草、配合飼料ともに全て購入し、水は井戸水を使用している。

発生の概要

1 発生経過

発生経過を表1に示す。2014年6月2日、14日齢のホルスタイン種子牛(症例①)が発熱、貧血、血便の症状を呈し、次第に衰弱して7日に死亡した。同日、1頭挟んで係留されていた、16日齢のF1子牛(症例②)が同様の症状を呈し、獣医師により補液、抗生物質(アンピシリン、エンロフロキサシン)等の治療を受けたものの9日に死亡した(図1)。

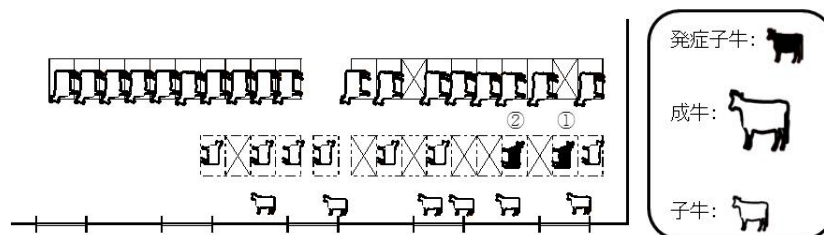


図1 成牛舎配置図

2 検診

農家からの連絡を受け、6月9日検診を実施した。
F1子牛(症例②)は起立不能で横臥し、頻脈、体温は40.5℃、結膜は暗赤色を呈していた。血液検査結果は、赤血球 $4.6 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 、白血球 $1.5 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、Ht 値 15.0%で、いずれも重度に低下していた。糞便検査結果は、虫卵陰性、ロタウイルス陰性、アデノウイルス陰性だった。なお、症例①と②の間に係留されていた1頭には異常を認めず、検診日には移動していた。

表1 発生経過

2014	症例① (ホルスタイン・雄)	症例② (F1・雌)
5/19	正常分娩(初産)	
5/24		正常分娩(初産)
6/2	発症(14日齢) 発熱、貧血、血便、衰弱	
6/7	死亡	発症(16日齢) 発熱、貧血、衰弱
6/8		治療(補液・抗生物質等)
6/9		血便、死亡
6/10		病性鑑定

剖検所見

検診日の夜、当該子牛が死亡したため、翌6月10日に病性鑑定を実施した。外貌上奇形等は認められなかった。鼻腔粘膜、歯茎に出血が認められた。剖検では、全身の皮下、胸腔内壁に出血が認められた(写真1)。肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胃、腸管に出血が認められ、血様の心嚢水が貯留していた(写真2)。横隔膜、大網、膀胱、胸腺、リンパ節等に出血が認められた。肺は右前葉に線維素が析出し、左右前葉は肝変化していた(写真3)。肝臓、腎臓は退色していた。大腿骨骨髓は黄色化し、均一な組織構造が失われていた(写真4)。



写真1 (左)背部皮下の出血、(右)胸腔内壁の出血



写真2 消化管・腸間膜リンパ節の出血

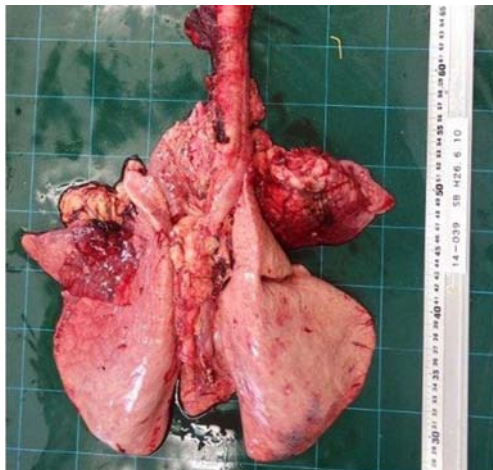


写真3 肺の出血、繊維素析出、肝変化



写真4 大腿骨骨髓(ホルマリン固定後)

検査方法

1 病理組織学的検査

大脳、小脳、脊髄、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、腸管、大網、膀胱、子宮、浅頸リンパ節、下顎リンパ節、肺門リンパ節、内腸骨下リンパ節、腸間膜リンパ節、胸腺、横隔膜、大腿骨等を10%緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後薄切し、定法に従いHE染色を実施した。

2 ウイルス学的検査

(1) ウイルス分離

MDBK-SY細胞を用いて、脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、について、5%CO₂、37℃、7日間、4代継代培養し、ウイルス分離を実施した。肺について、牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)の蛍光抗体法(FA法)を実施した。PCR法を用いて、肺の培養上清についてペスチウイルス遺伝子検索、RFLP(制限酵素Bgl11、Pst1)を実施した。

(2) 遺伝子検査

PCR法を用いて、肺、腎臓、脾臓について牛アデノウイルス遺伝子検索、脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓についてペスチウイルス遺伝子検索を実施した。

(3) 中和抗体検査

症例②、症例①②の母牛、及び同居牛の血清を用いて、BVDV1・2型の中和抗体検査を実施した。

3 細菌学的検査

肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、腸間膜リンパ節、体液、十二指腸内容物、回腸内容物についてβ-NAD加羊血液寒天培地を用いて微好気培養、DHL寒天培地を用いて好気培養、卵黄加CW寒天培地を用いて嫌気培養を37℃にて、48時間実施した。分離された大腸菌について、スライド凝集反応を用い血清型別検査、PCR法を用いて大腸菌毒素検査、病原性関連遺伝子解析を実施した。

病性鑑定

1 病理組織学的検査

各臓器の漿膜下並びに被膜下組織、筋組織、結合組織、及び消化管粘膜下織等に出血が認められた(写真5)。肺の左右前葉に線維素性化膿性気管支肺炎が認められた。大腿骨骨髄では、造血細胞が著しく減数し、脂肪細胞に置換されており、骨髄低形成が認められた(写真6)。リンパ組織では、リンパ濾胞構造が消失し、リンパ球は重度から軽度に減数していた。髄質領域を主体としてマクロファージが浸潤していた(写真7)。

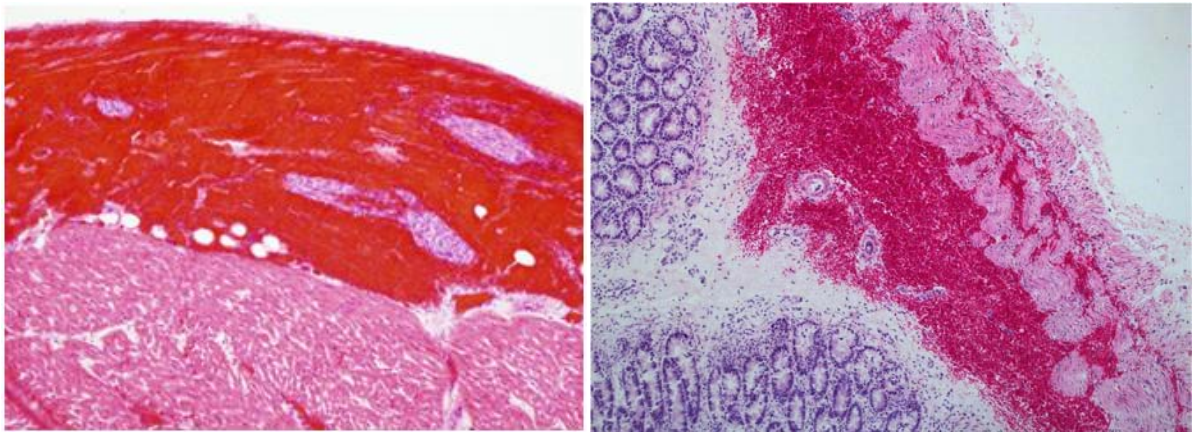


写真5 (左)心外膜下の出血(HE染色、100倍)

(右)十二指腸の粘膜下織・筋層の出血(HE染色、100倍)

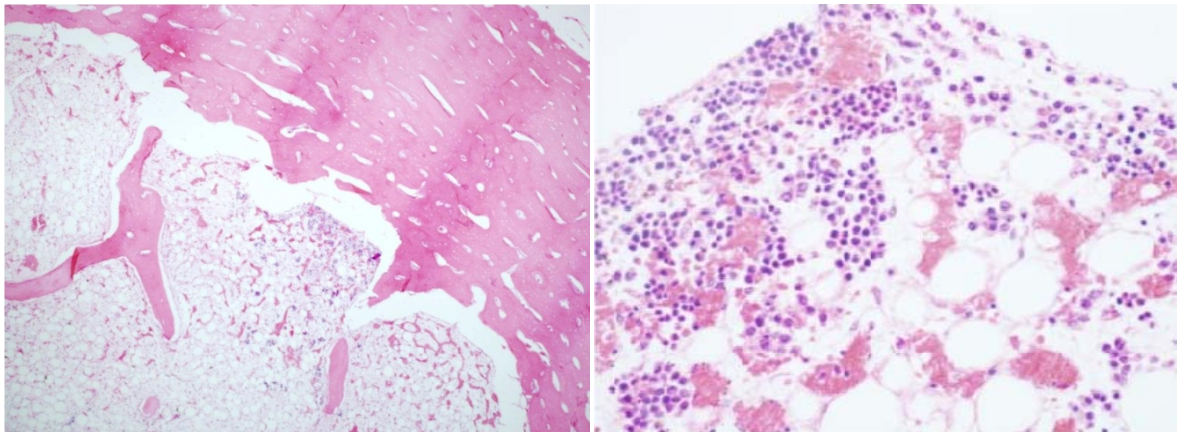


写真6 (左)大腿骨骨髄(HE染色、40倍)

(右)大腿骨骨髄(HE染色、400倍)

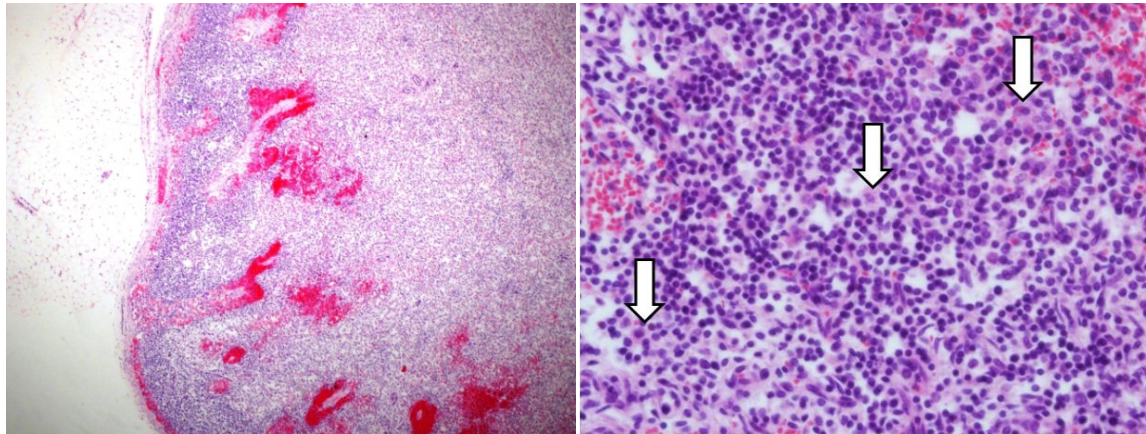


写真7 (左)内腸骨下リンパ節(HE染色、40)
(右)内腸骨下リンパ節(HE染色、400倍、矢印：マクロファージ)

2 ウイルス学的検査

(1) ウイルス分離

肺の4代目培養でCPEを確認し、FA法によりBVDVと同定した。4代目培養上清からペスチウイルス特異遺伝子が検出された。RFLPを実施したところBVDV1型であった。

(2) 遺伝子検査

牛アデノウイルス遺伝子検索、ペスチウイルス遺伝子検索は陰性であった。

(3) 中和抗体検査

血清のBVDV1型・2型の中和抗体価は、症例②、発症前後のそれぞれの母牛、及び同居牛も2倍未満だった(表2)。

表2 BVDV1型・2型の中和抗体価

	2013 7/2	2014 6/9	2014 11/10
症例②		<2	
症例①の母牛	<2		<2
症例②の母牛	<2		<2
同居牛	<2		<2

3 細菌学的検査

肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、腸間膜リンパ節、体液、十二指腸内容物、回腸内容物から大腸菌が分離された。分離された大腸菌は主なO群血清型と一致せず、毒素検査陰性(ST1, ST2, LT, VT)、病原性遺伝子解析陰性(LT, ST, VT, stx1, stx2, eae, invE, aggR, cdt, conf 2, F17, intA)であった。

考察

本症例は、若齢子牛が起立不能、発熱、貧血を呈し死亡したもので、病性鑑定の結果、全身各臓器の出血と大腿骨骨髓の低形成が認められた。全身の出血に骨髓の低形成が関与していると考えられる。

ウイルス学的検査では、BVDV1型が肺から分離されたが、症例②、発症前後のそれぞれの母牛、及び同居牛のBVDV1型・2型の中和抗体価がいずれも2倍未満だったことから、農場内でのウイルスの蔓延は認められず、本症例への関与の可能性は低いと考えられた。

細菌学的検査では、大腸菌が各臓器から分離されているが、主なO群血清型とは一致せず、毒素検査陰性、病原性関連遺伝子解析陰性であったことから、病原性大腸菌の可能性は低く、組織所見等からも本症例への関与は不明であった。また、発症牛2頭に共通の父系、母系はおらず、遺伝性疾患の可能性は低いと考えられる。

当農場では、飼料は市場に広く流通しているものを用い、井戸水は全ての飼養牛に給与している。また、殺鼠剤は使用しておらず、中毒の可能性も低い。これらのことより、本症例の原因は特定に至らなかった。

若齢の子牛が発熱と出血傾向を呈して死亡する症例は、2007年頃から欧州を中心に報告されている。これらの名称は定まっておらず、BCS (Bleeding Calf Syndrome)やBNP (Bovine Neonatal Pancytopeni)等と呼ばれ、農場での発生頭数はいずれも1～数頭で、原因は特定されていない⁽⁵⁾⁽⁶⁾。国内でも、2007年に北海道で1例⁽³⁾、2012年に大分県で類似の報告があったが⁽²⁾、原因は不明である。本症例、国内、欧州の症例の症状の比較を表3に示した。本症例は発熱、全身の出血、骨髓低形成、リンパ組織におけるリンパ球の減数といった点で、これらの報告と類似していた。

欧州では原因の一つに特定のメーカーのBVDワクチンの副作用の可能性が報告されているが⁽¹⁾⁽⁴⁾、このワクチンは国内では販売されていない。また、症例①②の母牛ともBVDワクチンは未接種であった。

なお、その後、当該農場では続発や類似の症状を示す牛は認められておらず、原因は不明のままだが、本症例が今後の原因究明の一助となれば幸いである。

表3 類似症例との比較

	神奈川 (2014)	北海道 (2007)	大分 (2012)	欧州 (2007～)
体温(°C)	40.5	40.2	37.2	40.0～41.0
全身の出血	○	○	○	○
骨髓低形成	○	○	×	○
リンパ組織における リンパ球減数	○	—	—	○
血小板(/μ)	NT	13,000	98,000	重篤な減少

—:報告なし

謝辞

病性鑑定にご協力を頂いた、独立法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所の諸先生方に深謝いたします。

引用文献

- 1) Farmers Guardian ホームページ(2011)
- 2) 西田清実ら：平成24年度大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録、演題8番(2012)
- 3) 島田飛鳥ら：Journal of Veterinary Medical Science 69(12), 1317-1319(2007)
- 4) 田島誉士：家畜診療、62巻1号、5-10(2015)
- 5) 農林水産省ホームページ(2010)
- 6) 米国農務省(USDA)ホームページ(2009)