

Dembo-RCAで迅速検査 牛の重要疾患 ミニハンドブック



東京農工大学附属 感染症未来疫学研究センター
日本中央競馬会



日本中央競馬会
特別振興資金助成事業



目次

- ・ 獣医さんを悩ます牛伝染病検査の課題とは? p.3
- ・ 現場で使える牛病原体の迅速検査システム
Dembo-RCAを開発中 p.4
- ・ Dembo-RCAで迅速検査を目指す牛の重要疾患リスト
 - 呼吸器病
 - ・ 牛RSウイルス p.5
 - ・ パスツレラ p.6
 - ・ 牛ライノウイルス病 p.7
 - 下痢症
 - ・ 牛エンテロウイルス病 p.8
 - ・ 牛コロナウイルス病 p.9
 - ・ 大腸菌症 p.10
 - ・ 牛ロタウイルス病 p.11
 - その他
 - ・ タイレリア症 p.12
 - ・ 伝染性角結膜炎 p.13
 - ・ ヘモプラズマ病(エペリスロゾン病) p.14
- 参考文献 p.15

獣医さんを悩ます牛伝染病検査の課題とは？

牛ヨーネ病や豚熱、鳥インフルエンザ等の監視伝染病を制御することは、畜産振興のための国策です。しかし、その他の疾病の被害も甚大で、その発生を確実に摘発して制御することが、喫緊の課題となっています。監視伝染病対象外の牛の重要な疾患は40種あり、その中には牛RSウイルス病や牛ロタウイルス病、牛コロナウイルス病など、畜産業に深刻な被害を及ぼす疾病も含まれています。

表1. 監視伝染病対象外の牛の重要な疾患（計40種）

ウイルス病（14種）

呼吸器病：牛RSウイルス病、牛アデノウイルス病、牛パラインフルエンザ、牛ライノウイルス病
 下痢症：牛ロタウイルス病、牛コロナウイルス病、牛エンテロウイルス病、牛トロウイルス病、牛バルボウイルス病
 その他：牛乳頭腫、牛先疫不全ウイルス感染症、牛痘、偽牛痘、ボルナウイルス感染症

細菌病（19種）

呼吸器病：バクテラ症（マンヘミアも含む）、ヒストフィルス・ソムニ感染症（髄膜脳炎）、マイコプラズマ性肺炎
 下痢症：エンテロトキセミア、大腸菌症、サルモネラ症（届出以外の血清型）
 その他：悪性水腫、壊死桿菌症、リステリア症、腎盂腎炎、伝染性角結膜炎、放線菌症、アクチノバチルス症、牛趾乳頭腫、デルマトフィルス症、ノカルジア症、ヘモプラズマ病、アナプラズマ病（セントラール）、コクシエラ症（Q熱）

真菌症（4種）

皮膚糸状菌症、カンジダ症、アスペルギルス症、ムコール症

原虫症（3種）

タイレリア病（オリエンターリス）、クリプトスポリジウム症、コクシジウム症

近年、遺伝子の検査技術が飛躍的に向上し、病原体によっては検査時間が大幅に短縮され、わずか10分で検査結果が得られるものもあります。そのため、伝染病の最前線で活躍する臨床獣医師にとっても、検査の負担が軽減されたはずだと思われがちですが、実際はどうでしょうか？実は、軽減されたのは検査機関で行われる検査に要する時間と手間です。臨床獣医師が農場に出向き、患畜から検体を採材し、検体を検査機関宛に発送してから結果を受け取るまで、少なくとも数日はかかるという現状は、残念ながら未だ改善されていません。

伝染病制御で改良すべきは、農場で臨床獣医師自身が病原体を検出できる方法を開発し、迅速に診断し治療を開始する体制を整えることなのです。

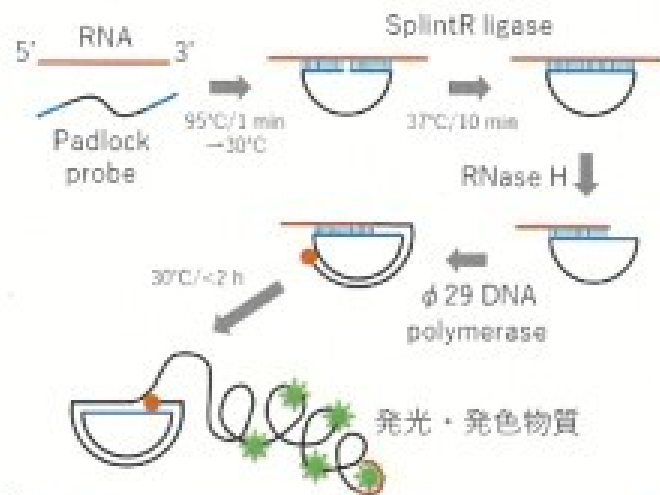
現場で使える牛病原体の迅速検査システム Dembo-RCAを開発中

獣医療の現場である牛農場で、臨床獣医師が病原体を網羅的、迅速、かつ高感度に検出し、その場で診断できる新しいシステムを構築しようと、私達は取り組んでいます。国や都道府県の機関が緊急対応できる監視伝染病ではなく、それ以外の牛の病原体を中心に、検査システムの開発を目指しています。牛農場に最新の技術をキット化して導入・普及することにより、臨床獣医師の負担を大幅に減らし、迅速かつ適切な疾病診断と治療を可能にしたいと考えています。

具体的には、私達が既に開発した最新の病原体検出技術のRHa-RCA法（RNaseH-assisted rolling circle amplification）を大幅に改良して、dembo-RCA（図1: Detection system of microbes for bovine diarrhea by realtime RCA）を開発します。このRha-RCA法は、等温増幅、高感度、安価、多検体同時解析が可能であることから、その技術をフルに活かして開発するdembo-RCAは、現場での牛病原体検出に最適なツールとして期待できます。

次ページから、dembo-RCAで検査可能となる、主な牛伝染病を紹介します。

図1. 本事業で開発するdembo-RCA



牛RSウイルス病

bovine respiratory syncytial virus infection

呼吸

症状

- 2-8日の潜伏期間の後、発熱(39.5-41.5℃)、呼吸器症状(流涎、湿性の発咳、鼻漏)、食欲不振・流涙など
- 細菌、マイコプラズマとの混合感染で症状が悪化
- 重症例: 気道狭窄による喘鳴、頭部・頸部・背部の皮下気腫、泌乳牛では乳量の著しい減少・泌乳停止

診断

- 類症鑑別: 牛伝染病鼻気管炎、牛パラインフルエンザ、牛マイコプラズマ肺炎、パスツレラ(マンヘミア)などの呼吸器疾病
- 病理: 間質性・肺胞性の肺気腫、肺の肝様変化、気管・気管支粘膜の充出血、期間内に粘性泡沫性粘液の貯留など
- 実験室内診断: ウイルス分離、抗原検出、PCRによる遺伝子検出

感染経路・原因

- 接触・飛沫感染 ・寒冷期に比較的重症の呼吸器症状があり集団発生も

予防

- 全ての伝染病について防疫の3原則を徹底(病原体を畜産農家へ持ち込まない、農場内で拡げない、畜産農家から持ち出さない)
- 牛RSウイルス病生ワクチンや混合ワクチンを、2-4か月齢の子牛に1-2回接種するのが望ましい
- 近年は妊娠牛にも接種できる鼻腔粘膜ワクチンも使われる

治療

- 対症療法・抗菌薬を投与し、細菌の二次感染による病勢悪化を防ぐ

2021年発生状況

23道府県56戸188頭(10頭死)

Dembo PCR プライマー配列

bovine respiratory syncytial virus

Forward ACCAAGACTTGTATGATGCTGCCAAAGCA

Reverse GCAATGCTGCAGGACTAGGTATAAT

Probe AACTGTAATTGATGACCCATTCT

5

パスツレラ症

pasteurellosis

呼吸

症状

- 呼吸促拍
- 粘性性鼻汁の漏出、流涙
- 発熱
- 出血性敗血症、肺炎、乳房炎、髄膜脳炎

診断

- 類症鑑別: *Histophilus somni*感染による肺炎
- 病理: 繊維素性・可能性の気管支肺炎、肺の水腫
- 実験室内診断: 発生状況・剖検所見・病変部からの菌分離と同定

感染経路・原因

- 経口・経気道・経皮感染
- 年間を通じて発生。特に飼育環境・気候の急変、長距離輸送等のストレス感作で発生する傾向
- 高密度飼育農場に多い
- ウイルス、マイコプラズマ、細菌と混合感染する傾向

予防

- ヒストフィルス・パスツレラ・マンヘミア混合不活化ワクチン接種

治療

- 対症療法
- ペニシリン系・セファロスポリン系等の抗菌薬を投与

2021年発生状況

27道府県93戸169頭(59頭死)

Dembo PCR プライマー配列

Pasteurella multocida

Forward CGGCGCAACTGATTGGACGTTATT

Reverse GGGCTTGTTCGGTAGTCTTT

Probe CGGCAAATAACAATAAGCTGAGTA

6

牛ライノウイルス病

bovine rhinovirus infection

呼吸

症状

- 感染後2-4日の潜伏期後に、呼吸器症状や軽度の発熱
- 水様性鼻汁の漏出、流涙や結膜炎、元気・食欲減退に陥ることも
- 他のウイルス・細菌との混合感染により症状は異なり、重症例では間質性肺炎も

診断

- 類症鑑別：臨床的に他の呼吸器疾患との類症鑑別は難しい
- 実験室内診断：ペア血清採取による中和後退下の陽転の確認およびウイルス分離。急性呼吸器症状を示す牛で、発症初期に鼻汁ぬぐい液の直接塗抹標本を作り蛍光抗体法により確認

感染経路・原因

- 接触・飛沫感染
- 流行は秋季～冬季

予防

- ワクチンはないが、前述の混合ワクチンを接種して他の呼吸器感染症を防ぐことで予防

治療

- 対症療法
- 抗菌薬を用い細菌などの二次感染を防ぐ

2021年発生状況

牛RSウイルス病・パスツレラ症との合併症 福岡1戸18頭、牛コロナウイルス病・牛パラインフルエンザとの合併症 長崎1戸10頭（5頭死）、パスツレラ症・牛マイコプラズマ肺炎との合併症 佐賀2戸9頭

Dembo PCR プライマー配列

bovine rhinovirus A Forward GACGTGGACTGGCACCAGTTTGC
Reverse CACCTGAACTATGGACTTGG
Probe CACGGCCTCAATCATCTG

bovine rhinovirus B Forward CTGTCCTTTGCACGGCGTGG
Reverse AACGCGATTGTGTCCTAGGG
Probe GCCACTGAGGTTAGCTTCTC

7

牛エンテロウイルス病

bovine enterovirus infection

下痢

症状

- 子牛・成牛の下痢・脱水

診断

- マルチプレックスPCR

感染経路・原因

- 下痢便や鼻汁を介した経口・経鼻感染

予防

- 子牛ではカウハッチの使用により水平伝播の抑制および初乳の投与による免疫付与

治療

- 対症療法
- 脱水症状の改善のため補液
- 細菌の二次感染を抑えるために抗菌薬投与

2021年発生状況

記録無し

Dembo PCR プライマー配列

bovine enterovirus
Forward CGCACAATCCAGTGTTGCTACGTCGTAAC
Reverse GCCGTGAATGCTGCTAATCC
Probe GTAGTCTGTTCCGCCTCCACCT

8

牛コロナウイルス病

bovine coronavirus infection

下痢

症状

- 子牛（特に4-30日齢）・成牛の下痢・脱水
- 子牛：1-2日の潜伏期間を経て、突然軽い発熱、元気消失、灰白色の下痢便
- 成牛：3-7日の潜伏期間を経て褐色の水様性下痢、泌乳量の大幅な低下
- 単独感染では下痢便は殆ど悪臭を伴わない（血液が混じることはある）

診断

- 実験室内診断：糞便からのウイルスの分離・同定
- ラテックス凝集法やイムノクロマトグラフィー法を応用したロタウイルス検出用キットで下痢便を検査材料として臨床検査が可能

感染経路・原因

- 下痢便や鼻汁を介した経口・経鼻感染
- 冬季に多発し、日夜の温度差によるストレスが病状を悪化させる
- 成牛では、主として舎飼いの乳用牛で流行する

予防

- 5種混合ワクチンを分娩前の母牛に接種し、初乳を新生子牛に給与する

治療

- 対症療法
- 脱水症状の改善のため補液
- 細菌の二次感染を抑えるために抗菌薬投与

2021年発生状況

全都道府県96戸365頭（8頭死）

Dembo PCR プライマー配列

bovine coronavirus

Forward ATTCCGACTAGGTTTCCGCCTGG

Reverse GGACCCAAGTAGCGATGAG

Probe GACCTTCCTGAGCCTTCAATA

牛大腸菌症

bovine E. coli infection

下痢

症状

- 12-18時間の潜伏期間を経て、突然激しい下痢
- 酸臭のある灰白色～黄色の水様性下痢（粘血便も）
- 裏急後重、哺乳欲減退、脱水による虚脱状態
- 子牛：生後3日齢までの灰白色～黄白色の水様性下痢

診断

- 類症鑑別：牛のサルモネラ症、牛コロナウイルス病、牛ロタウイルス病、牛コクシジウム病、牛クリプトスポリジウム症
- 病理：腸管毒素原性大腸菌感染では小腸粘膜上皮の多量の菌塊付着。腸管病原性大腸菌および志賀毒素産生性大腸菌感染では微絨毛破壊と菌粘着をみる腸管上皮接着微絨毛消滅病変
- 実験室内診断：菌分離と毒素検出またはPCRで遺伝子検出

感染経路・原因

- 経口感染
- 発病要因：飼養環境の急変、長距離輸送、飼料の急変などのストレス。ウイルスや原虫との混合感染も

予防

- 牛大腸菌性下痢ワクチンや牛下痢5種混合不活化ワクチンの接種

治療

- 初期の隔離治療が原則
- 脱水とアシドーシス防止のため輸液、原因療法として抗菌薬投与併用
- 敗血症を主徴とする場合は急性経過をとるため早期発見が必須

2021年発生状況

19道府県57戸109頭（88頭死）

Dembo PCR プライマー配列

毒素原性大腸菌 (K99) Forward ATTTTAAACTAAAACCAGCGCCCGGCA
Reverse GCTATTAGTGGTCATGGCACTGTAG
Probe TTTGTTTTGGCTAGGCAGTCATTA

志賀毒素産生性大腸菌 (eaeA) Forward GACCCGGCACAAGCATAAGC
Reverse CGCGGCCTTTCATCATTTTCG
Probe ACTGGTGAACCTGTTGCCGATCTT

牛ロタウイルス病

bovine rotavirus infection

下痢

症状

- ・ 急激な激しい水様性の下痢（子牛：乳黄色、黄色、淡黄緑色下痢便、成牛：泥状～水様下痢）
- ・ 発熱、食欲不振、元気消失
- ・ 長期間の下痢による脱水症状から体液バランスが崩れ、アシドーシスを起こして衰弱することも
- ・ 子牛下痢症の最も一般的な原因（A群ロタウイルスが最多で、特に4-14日齢の子牛の下痢の原因となる）

診断

- ・ 実験室内診断：糞便からのウイルスの分離・同定
- ・ ラテックス凝集法やイムノクロマトグラフィー法を応用したロタウイルス検出用キットで下痢便を検査材料として臨床検査が可能

感染経路・原因

- ・ 下痢便や下痢便で汚染された敷き藁・器具・人を介した経口感染（潜伏期間：12-36時間）
- ・ 全国的に発生し、汚染農場で流行を繰り返すことも

予防

- ・ 牛下痢5種混合不活化ワクチン
- ・ 初乳給与（凍結初乳や免疫グロブリン製剤投与も）

治療

- ・ 対症療法
- ・ 補液
- ・ 抗菌薬投与で細菌の二次感染を抑える

2021年発生状況

34道府県174戸300頭（35頭死）

Dembo PCR プライマー配列

bovine rotavirus A

Forward ACCAATTCCTCCAGTTTGGAAAYTCATTYCC

Reverse ACTCCAATGTAAGTGATCTAATTC

Probe GAGTTGTTCCAAGTAATCCAAA

タイレリア症

theileriosis

その他

症状

- ・ 発熱、貧血、発育停滞（死廃率は1%未満だが、起立不能から死亡するものも）
- ・ 重症例では貧血が進行して可視粘膜は蒼白となり、食欲が廃絶する

診断

- ・ 原虫の検出（ギムザ染色血液塗抹標本の観察）

感染経路・原因

- ・ フタトゲチマダニが媒介するタイレリア属原虫の感染によって引き起こされる
- ・ 春季の放牧開始時は媒介ダニの発生が最盛期であるため、感染リスクが高くなる
- ・ 若齢牛ほど重度に寄生される個体が多い

予防

- ・ プアオン法によるピレスロイド系外部寄生虫駆除剤等を使用した媒介ダニの駆除による感染予防
- ・ 放牧馴致および早期発見・治療による発病予防

治療

- ・ 抗原虫薬の投与
- ・ 補液や二次感染対策を中心とした対症療法
- ・ 発病牛は安静を保ち、良質な飼料の給与

2021年発生状況

記録無し

Dembo PCR プライマー配列

Theileria orientalis

Forward TTGAGCAGAGCGAGGCAAACA

Reverse AGAGGYTTGTAGTCCRAAGGC

Probe TGCACGCYATGAACARTGCT

伝染性角結膜炎

infectious keratoconjunctivitis

その他

症状

- ・ 片側または両側の眼の結膜や角膜に炎症
- ・ 初期：角膜中央部に2-3mmの白斑が形成され、流涙が顕著となり、次第に角膜全体に及ぶ
- ・ 結膜の腫脹・充血・眼瞼の腫脹
- ・ 症状が進むと角膜の混濁が増加し、中心部を取り巻くように周縁部から血管新生が起こり、ピンク色（ピンクアイ）になる
- ・ 経過が長いと角膜に穴が開き、眼球が化膿して破れ、失明に至ることも

診断

- ・ 実験室内診断：眼結膜分泌物のぬぐい液を血液寒天培地で培養後、*Moraxella bovis*（グラム陰性短桿菌）を分離

感染経路・原因

- ・ 年間を通して発生。夏～秋季には若齢牛や放牧牛で集団発生
- ・ 牛同士の接触、保菌牛に接触した昆虫や人を介して感染
- ・ 主に放牧中に感染し、発生は比較的若齢牛に多い

予防

- ・ 患畜を隔離
- ・ 有害昆虫（ハエなど）の駆除

治療

- ・ 主に抗菌薬入り眼軟膏、点眼液、眼球結膜下注射法、眼瞼結膜下注射法

2021年発生状況

5道府県7戸17頭

Dembo PCR プライマー配列

Moraxella bovis

Forward GGTGACGACCGCTTGTTT
Reverse ATCATCGCCTTCATCTCCAG
Probe CGATCGTTGCCTTTACCACC

13

ヘモプラズマ病

（エペリスロゾン病）

hemoplasmosis (eperythrozoonosis)

その他

症状

- ・ 赤血球に寄生するマイコプラズマ感染に起因
- ・ 多くは不顕性だが、循環器系の異常（貧血・黄疸）を示す
- ・ 40°C以上の発熱、食欲減退、可視粘膜の充血、心悸亢進、後肢蹠跛などに続き、貧血と白血球増多症が起こる

診断

- ・ ギムザ染色またはアクリジン・オレンジ染色を施した末梢血塗抹標本での菌体確認、末梢血 CANを用いたPCR

感染経路・原因

- ・ ダニなどの吸血性節足動物が媒介
- ・ 単独での発症は稀で、タイレリア、バベシア、アナプラズマなどとの混合感染例が多い

予防

- ・ 吸血性節足動物の駆除

治療

- ・ テトラサイクリン系抗菌薬や砒素剤を用いるが、完全な病原体除去は困難

2021年発生状況

記録無し

Dembo PCR プライマー配列

Mycoplasma wenyounii

Forward GTCTGCGTGAGGAGCATCTT
Reverse GATGCTGGTGCGGATAAGGT
Probe TGCTGTCATCCTTTGCAGGAGCA

Mycoplasma haemobos

Forward AGATCCGGCAGTGTGAGAAA
Reverse TGCAGCAGCAGCTATTGGTA
Probe TGGA ACTCTGTGAGCAACACCATCCA

14

参考文献

- 家畜感染症学会編「子牛の医学胎子期から出生・育成期まで」緑書房, 2014年.
- 公益社団法人 日本獣医学会 微生物学分科会編「動物感染症学」近代出版, 2016年.
- 社団法人 日本獣医師会「家畜疾病総合情報システム（牛編）」閲覧日2022-11-01,
<http://nichiju.lin.gr.jp/tksn/list01.html>
- 農林水産省「監視伝染病以外の発生状況（令和3年）」閲覧日2022-11-01,
https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/attach/pdf/kanren_zyouhou-7.pdf