

県内におけるピートンウイルス侵入状況調査

紀北家畜保健衛生所
○安田裕子 坂田明子
畑野希枝 鳩谷珠希

【背景】

ピートンウイルス (PEAV) の関与を疑う牛異常産は、1996～2016年に沖縄県と九州地方を中心に計 31 例、2016～2017年に中国地方を中心に計 13 例、その後は散発的に発生が確認されている。県内では、これまで PEAV による異常産は確認されていないが、侵入状況は未調査であったため、今回調査を行った。

【方法】

①おとり牛の抗体保有調査：2020～2024年における子牛のアルボウイルス感染症サーベイランス残余血清（各年 6、8、9、11 月採材）26 農場延べ 784 検体を用いて、PEAV の中和試験をマイクロタイター法により実施した。

中和試験：被検血清は、56℃で 30 分間の非働化を行った。96 穴プレートの各ウェルにイーグル培養液を 50 μ L ずつ入れ、最初のウェルに被検血清を 50 μ L 加えて 2 倍階段希釈した。各希釈液に 200TCID₅₀/100 μ L に調整したウイルス液を 50 μ L 加えて 37℃で 1 時間反応させた。その後、牛血清 10% 加イーグル培養液に浮遊させた HmLu-1 細胞を各ウェルに 0.1 mL ずつ加えて、5% 炭酸ガス存在下において 37℃で 7 日間培養した。細胞変性効果 (CPE) の発現を 50% 阻止した血清の最高希釈倍数の逆数を抗体価とした。PEAV は 2006 年鹿児島分離株 (KSB-1/P/06 株) を使用した。なお、抗体陽転は農林水産省の「2023 年度牛のアルボウイルス感染症サーベイランス結果報告」におけるアカバネウイルス及びアイノウイルスの最終判定と同様、2～4 回目の抗体価が前回又は前々回の抗体価よりも 2 管以上上昇し、かつ、4 回目の抗体価が 32 倍以上を維持している場合とした。

②①で 6 月に 16 倍以上の抗体価を示したおとり牛 4 頭の母牛血清 13 検体 (2020～2024 年採材) を用いて、PEAV の中和試験を①と同様の方法で実施した。また、これらの血清及び 2024 年に採材したこれら母牛の血漿及び血球を加えた 17 検体を用いて遺伝子検査及びウイルス分離を実施した。

遺伝子検査：血清及び血漿は、ウイルス RNA 抽出キット (QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN, U. S. A.) を用いて、血球はウイル

ス RNA 抽出キット (RNeasy Mini Kit, QIAGEN, U.S.A.) を用いて、RNA を抽出した。その後、RT-PCR キット (PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus), TaKaRa, 滋賀) を用いて、アルボウイルスのマルチプレックス RT-PCR 法を実施した [1]。

ウイルス分離：検査材料を HmLu-1 細胞に接種し、静置培養によるウイルス分離を試みた。

③ 県内 7 地域 (海草、那賀、伊都、有田、日高、西牟婁、東牟婁) から各 1 農場 (東牟婁は②で 2 農場にて抗体を保有する母牛がいたことから、ハイリスク地域と考え 3 農場) を選択し、2020～2024 年における繁殖牛の残余血清 435 検体を用いて中和試験を①と同様の方法で実施した。なお、血清は牛 1 頭につき 1 検体として、最も古い血清を選択した。

【結果】

① 2020 年～2024 年の 5 年間で、抗体陽転は確認されなかったが、2020 年、2021 年、2024 年に 6 月の抗体価が 16 倍以上のおとり牛が 4 頭認められた (表 1)。4 頭とも母牛の初乳を摂取しており、移行抗体を含む可能性がある初乳製剤の使用はなかった。なお、牛のアルボウイルス検査マニュアル [1] に、「ピートシウイルスではウイルス株によって 8 倍程度までの牛血清で非特異的な CPE の抑制がみられることがある」と記載があったため、今回、抗体価 16 倍以上の牛を選択した。

② 母牛 4 頭の抗体価は 32～128 倍で、遺伝子検査及びウイルス分離は全て陰性であった (表 2)。

③ 抗体価が 32 倍以上の繁殖牛が、海草で 3 頭、日高で 2 頭、西牟婁で 2 頭、東牟婁の 2 農場で 10 頭の計 17 頭 (おとり牛の母牛 4 頭を含む) 確認された (図 1)。なお「2023 年度牛のアルボウイルス感染症サーベイランス結果報告」におけるアカバネウイルス及びアイノウイルスの抗体陽転の定義の中で、4 回目の抗体価が 32 倍以上を維持している場合とあったため、母牛についても準じて、抗体価 32 倍以上の牛を選択した。

【考察】

おとり牛の抗体保有調査の結果では、抗体陽転は認められなかったが、移行抗体を保有している子牛が確認された。この子牛の母牛は抗体を保有していることが確認され、本県では PEAV ワク

チンを接種していないことから、当該母牛は過去に PEAV に感染していたと考えられた。また、県内 7 地域の繁殖牛の抗体保有調査により、同様の牛が 4 地域で 17 頭確認されたことから、PEAV は当該牛の出生から採材日まで（2000～2021 年）の間に、県内に広範囲に侵入していたと考えられた（図 2）。なお、2000～2002 年に、県外にいた牛が 1 頭、異動状況不明の牛が 2 頭認められたが、PEAV を含む牛異常産 4 種混合の販売開始が 2016 年のため [2]、これらの牛は、ワクチン接種されていないと考えられる。2016～2017 年に中国地方及び近畿地方で PEAV が流行していたことから [3, 4]、本県への侵入もこの時期ではないかと推測された。本県では毎年、繁殖牛に牛異常産 3 種混合ワクチン（アカバネウイルス・アイノウイルス・チュウザンウイルス）を接種しているが、今後は PEAV による異常産を予防するため、PEAV を加えた牛異常産 4 種混合を接種する予定である。

【参考文献】

- [1]動物衛生研究部門, 2018, 牛のアルボウイルス検査マニュアル (2018 年 6 月 14 日版), <https://www.naro.go.jp/laboratory/niah/disease/files/arbomanual20180614.pdf>
- [2] “京都微研”, 牛異常産 4 種混合不活化ワクチン使用説明書, 2021, <https://www.kyotobiken.co.jp/products/images/BA4V%E2%91%A5.pdf>
- [3]白藤浩明, 2018, 牛の異常産や熱性疾患の原因となるアルボウイルスに関する最近の知見, *The Journal of Farm Animal in Infectious Disease* 7(3), pp.85-92
- [4]梶河紗代, 2018, 淡路地域におけるピートンウイルスが関与した牛の異常産発生とワクチン接種の変更, 日本産業動物獣医学会(近畿)・日本小動物獣医学会(近畿)・日本獣医公衆衛生学会(近畿) (獣医学術近畿地区学会講演要旨集), p. 22

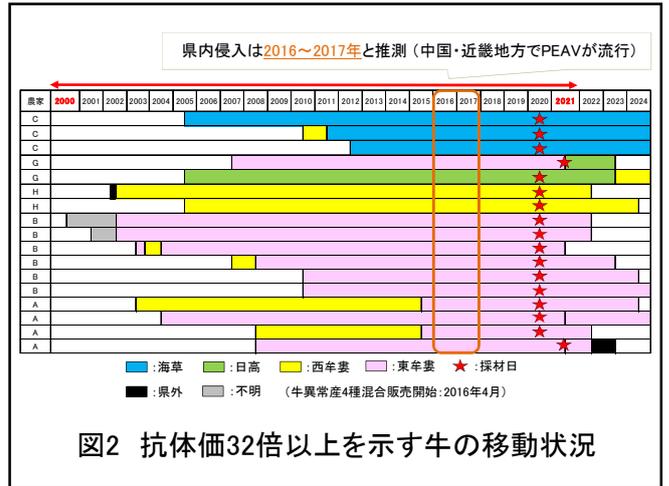
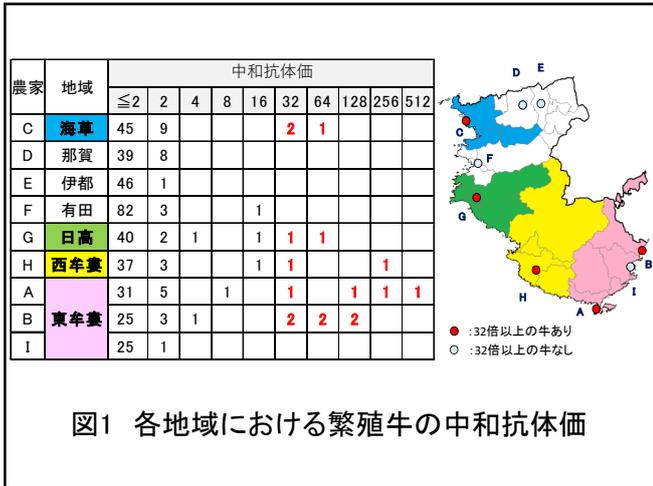


表1 6月に抗体価16倍以上を示す牛の中和試験の結果

おとり牛	農家	年	中和抗体価			
			6月	8月	9月	11月
1	A	2020	16	4	<2	<2
2	B	2021	32	8	2	<2
3	C	2024	32	<2	<2	2
4	A	2024	128	<2	<2	<2

表2 母牛4頭の検査結果

母牛	中和抗体価					遺伝子検査 陽性数/検査数	ウイルス分離 陽性数/検査数	~参考~ おとり牛の 6月の 中和抗体価
	2020年	2021年	2022年	2023年	2024年			
1	128	NT	32	NT	NT	0/2	0/2	16 (2020年)
2	64	128	64	64	NT	0/4	0/4	32 (2021年)
3	32	NT	NT	NT	64	0/4	0/4	32 (2024年)
4	32	32	32	32	64	0/7	0/7	128 (2024年)