

岩手県内の農場で死亡した牛における牛ウイルス性 下痢ウイルスの感染状況調査

福成和博^{1)†} 八重樫岳司¹⁾ 千葉 伸¹⁾ 亀山健一郎²⁾

- 1) 岩手県中央家畜保健衛生所 (〒020-0173 岩手郡滝沢村滝沢字砂込390-5)
2) 独農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)

(2013年5月2日受付・2013年8月27日受理)

要 約

2011年3月～2013年3月までの25カ月間に岩手県内の2,203農場で死亡し、牛海綿状脳症 (BSE) 検査に用いられた2歳齢以上の9,362頭の牛の延髄を活用し、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 感染状況を調査した。BVDVは飼養農場31戸 (1.41%) の36頭 (0.38%) から検出され、年齢別では死亡時に2歳齢であった牛が1.72% (22頭/1,279頭)、生産農場の経営形態別では酪農場が1.76% (25戸/1,417戸) と有意に高い検出率を示した。また、36分離株における2型BVDVの割合も22.2%と高く、過去に行われた県内調査の結果と異なっていた。これらの成績から、本県におけるBVDの清浄化には、酪農場におけるBVDVの監視及び2型ウイルスの対策が重要であることが示唆された。死亡牛を活用したBVDV検査はBVDVの感染状況及び疫学調査に利用可能であると考えられた。

—キーワード：牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、死亡牛、疫学、遺伝子型、延髄。

----- 日獣会誌 66, 785～790 (2013)

牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 非細胞病原性 (NCP) 株の妊娠初期の牛への感染は、垂直感染の結果、同ウイルス持続感染 (PI) 牛の分娩を引き起こす [1, 2]。PI牛は生涯にわたり多量のウイルスを排出し、他の牛への感染源となり [1, 3, 4]、多くは発育不良や虚弱などにより2歳齢までに淘汰されるか粘膜病を発症し死亡する [1, 4-7]。それ以降も生存し飼養され続けた場合には、本牛自身が発育遅延等を示すほか、急性感染症による他牛の生産性低下に影響を与える要因となるため [1, 3-5, 8]、PI牛の早期把握及び牛群からの早期排除が本病の対策上重要である。本県では、1975年以降、年間数例の発育不良又は粘膜病など臨床症状を示した牛がBVDV感染症と診断されているが、臨床的な異常を示すことなく飼養されているPI牛の浸潤状況に関する調査は行われていない。

2002年度から全国で牛海綿状脳症 (BSE) 特別措置法に基づくBSE検査が、死亡した2歳齢以上の牛を対象として行われている。およそ15万頭の牛が飼養され

ている本県では、年間約3,500頭の成牛が同検査の対象となり、材料としてそれらの延髄が採取されている。同材料がBVDV検査に活用できれば、県内広域のBVDVの動態を監視する有用な手法となり得る。

この報告では、発育不良及び虚弱などの所見を示すことなく生育し、粘膜病を発症せずに飼養され続けたPI牛を把握し、その実態を明らかにすることを目的に、県内死亡牛のBSE検査材料を活用したBVDV感染状況調査の成績を述べる。

材料及び方法

検査材料：2011年3月～2013年3月までの25カ月間に岩手県内で死亡した牛のうち、BSE検査に供された2歳齢以上の牛9,362頭の延髄を材料とした。飼養農場の内訳は、県内全33市町村の酪農場1,090戸7,200頭、肉用牛繁殖農場1,092戸1,793頭、肥育農場145戸369頭であった。各農場区分に重複があるため、飼養農場の実戸数は2,203戸であった。生産農場の内訳は、県

† 連絡責任者：福成和博 (岩手県中央家畜保健衛生所)

〒020-0173 岩手郡滝沢村滝沢字砂込390-5

☎019-688-4111 FAX 019-688-4012

E-mail : k-fukunari@pref.iwate.jp

表1 BVDV 陽性牛の疫学情報

| 生産農場 | | | 飼養農場 | | | | 陽性牛の農場間移動パターン |
|-------|-----|-----------|---------|-----|-------------|--------------|-----------------|
| 経営形態 | 農場数 | 母牛用途 (品種) | 経営形態 | 農場数 | 陽性牛*用途 (品種) | 陽性頭数 (内導入頭数) | |
| 酪農 | 25 | 搾乳 (Hol) | 酪農肥育 | 19 | 搾乳 (Hol) | 21 (9) | 酪農場→酪農場 |
| | | | | 6 | 肥育 (F1) | 7 (7) | 酪農場→肥育農場 |
| 計 | 25 | | | 25 | | 28 (16) | |
| 肉用牛繁殖 | 8 | 繁殖 (JB) | 肉用牛繁殖肥育 | 2 | 繁殖 (JB) | 2 (2) | 肉用牛繁殖農場→肉用牛繁殖農場 |
| | | | | 4 | 肥育 (JB) | 6 (4) | 肉用牛繁殖農場→肥育農場 |
| 計 | 8 | | | 6 | | 8 (6) | |
| 合計 | 33 | | | 31 | | 36 (22) | |

*Hol: ホルスタイン種, JB: 黒毛和種, F1: 交雑種 (Hol×JB)

表2 年齢別及び生産農場経営形態別のBVDV陽性率

| 区分 | 農場数 (A) | 検査頭数 (B) | 陽性農場数 (C) | 陽性頭数 (D) | 農場陽性率 (%) (C/A×100) | 頭数陽性率 (%) (D/B×100) |
|-----------|---------|----------|-----------|----------|---------------------|-----------------------|
| 年齢別 | | 9,362 | | 36 | | 0.38 |
| 2歳齢 | | 1,279 | | 22 | | 1.72 ^{a*} |
| | (肥育) | 353 | | 13 | | 3.68 ^b |
| | (搾乳・繁殖) | 926 | | 9 | | 0.97 ^c |
| 3歳齢以上 | | 8,083 | | 14 | | 0.17 ^{a,b,c} |
| 生産農場経営形態別 | 2,913 | 9,362 | 33 | 36 | 1.13 | 0.38 |
| 酪農 | 1,417 | 7,203 | 25 | 28 | 1.76 ^d | 0.39 |
| 肉用牛繁殖 | 1,337 | 2,000 | 8 | 8 | 0.60 ^d | 0.40 |
| 不明 | 159 | 159 | 0 | 0 | 0.00 | 0.00 |

*a-dの同符号間に有意差あり (a, b, c: P<0.001, d: P<0.01)

内を含む23道県の酪農場1,417戸, 肉用牛繁殖農場1,337戸, 不明159戸であった。これらの牛から採取された延髄を死亡後3~15日以内にBSE検査の市販キット (TeSeE™ PURIFICATION KIT, バイオ・ラッドラボラトリーズ株, 東京) を用いて乳剤を作製し, -30℃で保存後, 1週間以内にBVDVの検査に供した。

RT-PCR: 延髄乳剤10頭分を混合し, 市販キット (TRIzol LS Reagent, ライフテクノロジーズジャパン株, 東京) を用いて全RNAを抽出した。BVDV遺伝子の検出は, 324及び326のプライマーペア [9] を用いて5'末端非翻訳領域 (UTR) の288塩基を増幅した。RT-PCRは市販キット (SuperScript One-Step RT-PCR with Platinum Taq, ライフテクノロジーズジャパン株, 東京) を使用し, 50℃/30分, 94℃/2分のcDNA合成後, 94℃/1分, 55℃/1分, 72℃/1分を1サイクルとして40サイクル繰り返した後に, 72℃/10分間反応させた。増幅産物の確認はアガロースゲル電気泳動により行った。BVDV遺伝子が検出された場合には, 延髄乳剤から同様の方法でRT-PCRを行い, 同遺伝子が検出された個体を特定した。

ウイルス分離: BVDV遺伝子が検出された死亡牛の

延髄乳剤を材料とし, 常法 [10] に準じた免疫染色を行った。96穴プレートに10倍希釈した乳剤100µl及び馬血清馴化牛胎子筋肉細胞100µlを同時に接種した。約1週間の培養後, 上清を除去し, 乾燥固定後, 1次抗体 (JCU/BVD/CF10, TropBio, Australia), 2次抗体 (Blotting Grade Affinity Purified Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Horseradish Peroxidase Conjugate, バイオ・ラッドラボラトリーズ株, 東京), 基質溶液の順に反応させ, 抗原が特異的に染色された検体を陽性とした。

疫学調査及び統計処理: 調査対象牛全頭の個体情報 (飼養農場, 生産農場, 年齢, 用途, 品種及び移動歴) は, 個体識別情報検索サービス (URL: <http://www.id.nlbc.go.jp/top.html>) から得た。また, BVDV検出率を年齢別及び生産農場経営形態別で比較し, Fisherの正確確率検定により統計処理を行い, いずれも危険率1%未満を統計学的有意差ありと判定した。

5'-UTRの塩基配列決定及び分子系統解析: RT-PCR増幅産物を市販キット (QIAquick PCR Purification Kit, 株キアゲン, 東京) により精製後, 市販キット (Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, ライフテクノロジーズジャパン株, 東京) を用いたサイク

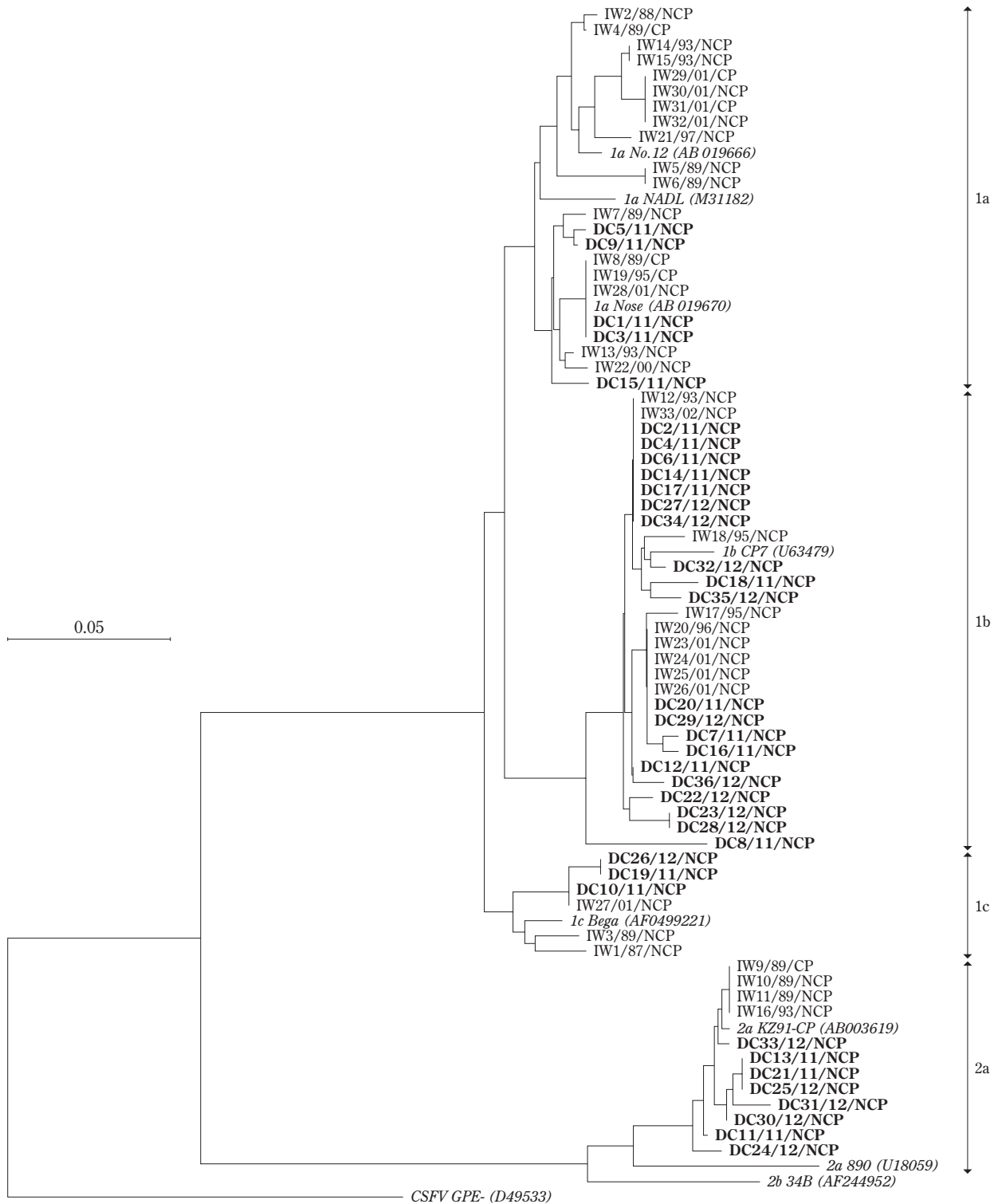


図 県内分離株の分子系統樹

5'-UTR 領域における塩基配列より Neighbour-joining 法を用いて分子系統樹を作製した。太字は本研究における分離株、斜体は遺伝子データベース上の参照株を示す。各ウイルスの株名は「分離順位/分離年/生物型」とした。

ルシークエンス反応を行った。反応産物は市販キット (BigDye XTerminator Purification Kit, ライフテクノロジーズジャパン株, 東京) を用いて余剰標識 dNTPs を除去後, オートシーケンサー (Applied Biosystems 3130x Genetic Analyzer, ライフテクノロジーズ

ジャパン株, 東京) で分析し, 塩基配列を決定した。得られた約 240 塩基の配列は, フリーソフトの MEGA4 [11] で整列化し, 本県で過去に分離された 33 株 (IW1 ~ IW33) [12] 及び GeneBank データベース上の参照株とともに Neighbor-joining 法 [13] により分子系統

樹を作成し、遺伝子型を決定した。

成 績

BVDVの検出状況：BVDV 遺伝子は飼養農場31戸(1.41%)の36頭(0.38%)から検出され、そのすべてからBVDVのNCP株が分離された(表1, 図)。36頭の内訳は、年齢別に2歳齢22頭, 3歳齢7頭, 4歳齢2頭, 6歳齢2頭, 7歳齢2頭及び9歳齢1頭であった。飼養農場における用途別では搾乳21頭, 肉用牛繁殖2頭及び肥育13頭であった。品種別ではホルスタイン種21頭, 黒毛和種8頭及び交雑種7頭であった。生産農場経営形態別には酪農28頭, 肉用牛繁殖8頭であった。そのうち, 22頭が導入牛(県内13頭, 県外9頭)であり, 16頭(73%)及び6頭(27%)がそれぞれ酪農場及び肉用牛繁殖農場において生産された牛であった。BVDV陽性牛の年齢及び生産農場経営形態の各区分には, 統計学的な有意差が認められた(表2)。すなわち, 年齢別の検出率は, 死亡時に2歳齢であった牛1,279頭中22頭(1.72%)に対し, 3歳齢以上では8,083頭中14頭(0.17%)に留まった($P<0.001$)。これは2歳齢の群から肥育牛(3歳齢までに出荷)を除いた場合(0.97%)でも同様であった($P<0.001$)。生産農場経営形態別では酪農が1,417戸中25戸(1.76%)と高い値を示し, 肉用牛繁殖の1,337戸中8戸(0.60%)との間に有意差がみられた($P<0.01$)。

分離株の性状解析：分離された36株(DC1~DC36)はすべて非細胞病原性(NCP)株であった。また, 分子系統解析より, 各ウイルスは遺伝子型1a(5株), 1b(20株), 1c(3株)及び2a(8株)に分類された(図)。これら分離株と既報[12]の33株の各遺伝子型の割合は, それぞれ1型が77.8%, 87.9%及び2型が22.2%, 12.1%であった。分離された2型BVDV 8株の塩基配列は, 互いに100%の相同性を示した既報[12]の2型BVDV 4株のそれとはすべて異なっていた。今回分離された2型BVDV 8株中3株は県外導入牛から検出された。

考 察

2歳齢以上の死亡牛を対象とした本調査では9,362頭中36頭(0.38%)の延髄からBVDV遺伝子が検出され, そのすべてからNCP株が分離された。生前の材料が得られないため確定診断は不可能だが, PI牛の脳組織からはBVDV抗原が検出される[14-16]のに対し, 急性感染させた牛の脳組織からは検出されなかったことが報告されている[17, 18]ことから, 本調査で陽性となった36頭の牛はすべてPI牛であった可能性が高いと考えられる。一定の牛群に占めるPI牛の割合は数カ国で報告されており, デンマークのと畜場搬入牛1,332頭

のランダム調査(成牛)では0.9% [19], デンマーク, アメリカ及びカナダの牛群(子牛/成牛)では0.1%未満~1.1% [20-22] 等である。本調査における死亡牛のBVDV検出率は0.38%であることから, 調査対象集団が異なるものの海外の報告と同程度の割合でPI牛が県内に存在する可能性が高いことが明らかとなった。しかしながら, PI牛の多くは2歳齢までに死亡又は淘汰されるとされており [1, 4-7], Houeら [20] は1歳齢未満及びそれ以上の年齢区分においてそれぞれ2.9%及び0.6%のPI牛が存在していたことを明らかにしている。本調査においても2歳齢の牛(肥育牛を除く)及び3歳齢以上の牛におけるBVDV検出率はそれぞれ0.97%及び0.17%と, 若い牛が有意に高い結果となった。これらのデータは本調査の対象とならない2歳齢未満の牛に, より高い割合でPI牛が存在することを示唆しており, 県内には本調査の検出率(0.38%)以上のPI牛が存在すると推察される。

一方で, 無症状のまま泌乳開始年齢にまで成長する個体も存在することが報告されている [23, 24]。本調査においても6歳齢, 7歳齢及び9歳齢の計5頭の牛が陽性を示した。これらの高齢な個体は, 県内で出生後, 県外への移動はないことから, 多数のPI産子を分娩するとともに周囲の牛への主要な感染源となっていたと考えられ, 県内農場においてBVDVをまん延させる要因の一つになっていたことを示唆している。

生産農場のBVDV検出率を経営形態ごとに比較すると, 肉用牛繁殖農場に比べ酪農場が有意に高い結果となった。この背景には酪農場におけるBVDVワクチンの利用率が低いことがあると考えられる。また, 本調査における陽性個体の61%が導入牛であり, これらの牛は肉用牛繁殖農場間よりも酪農場間の移動が多かった。牛群間のBVDV伝播にはPI牛あるいはPI胎子を有する妊娠牛の感受性群への導入が重要な役割を果たすことから [5, 8], 県内においてPI牛がBVDV感受性個体の多い酪農場へ移動することにより, 新たなPI牛が発生している状況が示唆される。以上から本病の対策として, 特に酪農場における予防対策及び移動の監視強化が必要と考えられる。

今回分離された36株の遺伝子型は1a, 1b, 1c及び2aに分類された。特に2型BVDVでは遺伝的に異なる複数のウイルス株が県内に浸潤しており, 過去に分離された系統 [12] とも異なっていたことから, 県外から侵入した可能性も示唆された。本調査における2型BVDVの割合は22.2%であり, 北海道を中心とする国内分離株の16.6% [25] 及び県内分離株の12.1% [12] とする既報より高率であった。本県における2型BVDVの分布は限局的であると考えられていた [12] ことから, 2型BVDVを含むワクチンが十分に活用されていない。

今後の本病の対策には、同ワクチンの活用を推奨する必要がある。

牛群内におけるPI牛のスクリーニングには、バルク乳を用いた検査 [24, 26] 及び育成牛群の抽出検査 (スポット法) [27-29] などの方法の有効性が報告されているが、PI牛が摘発された際の対応の問題から大規模な実施は難しい。今回行ったBVDV検査法は、対象が2歳齢以上の死亡牛に限られるものの、約2年の期間内に県内の約9割の酪農場から材料が得られたことから、広い範囲の感染状況及び疫学的特徴の把握に有用であることが確認された。これら情報を基に高リスク群に対する重点的なスクリーニングを行うことで、より効率的にPI牛を摘発できると考えられる。BSE検査終了後は検体の収集が困難になると考えられるため、検査が継続される期間内に感染率及びウイルス等の疫学的情報の収集を行う必要がある。本手法が国内におけるBVD清浄化対策の一助となることを期待する。

引用文献

- [1] Baker JC : Bovine viral diarrhoea virus: A review, *J Am Vet Med Assoc*, 190, 1449-1458 (1987)
- [2] McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR : Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus, *Can J Comp Med*, 48, 156-161 (1984)
- [3] 田島誉士 : 牛ウイルス性下痢ウイルス感染症, *日獣会誌*, 65, 111-117 (2012)
- [4] Houe H : Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 11, 521-548 (1995)
- [5] Duffell SJ, Harkness JW : Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle, *Vet Rec*, 117, 240-245 (1985)
- [6] Houe H : Survivorship of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV), *Prev Vet Med*, 15, 275-283 (1995)
- [7] Baker JC : The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 11, 425-445 (1995)
- [8] Houe H : Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections, *Vet Microbiol*, 64, 89-107 (1999)
- [9] Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ : Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, *Arch Virol*, 136, 309-323 (1994)
- [10] 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)
- [11] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S : MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0, *Mol Biol Evol*, 24, 1596-1599 (2007)
- [12] 八重樫岳司, 清宮幸男, 迫田義博, 関 慶久 : 岩手県で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの分子系統解析, *日獣会誌*, 57, 31-35 (2004)
- [13] Saitou N, Nei M : The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, 4, 406-425 (1987)
- [14] Bielefeldt Ohmann H : BVD virus antigens in tissues of persistently viremic, clinically normal cattle: Implication for the pathogenesis of clinically fatal disease, *Acta Vet Scand*, 29, 77-84 (1988)
- [15] Fernandez A, Hewicker M, Trautwein G, Pohlenz J, Liess B : Viral antigen distribution in the central nervous system of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus, *Vet Pathol*, 26, 26-32 (1989)
- [16] Hewicker M, Wohrmann T, Fernandez A, Trautwein G, Liess B, Moennig V : Immunohistological detection of bovine viral diarrhoea virus antigen in the central nervous system of persistently infected cattle using monoclonal antibodies, *Vet Microbiol*, 23, 203-210 (1990)
- [17] Liebler-Tenorio EM, Ridpath JF, Neill JD : Distribution of viral antigen and development of lesions after experimental infection of calves with a BVDV 2 strain of low virulence, *J Vet Diagn Invest*, 15, 221-232 (2003)
- [18] Liebler-Tenorio EM, Ridpath JE, Neill JD : Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus, *J Vet Diagn Invest*, 16, 388-396 (2004)
- [19] Meyling A : Detection of BVD virus in viremic cattle by an indirect immunoperoxidase technique, *Recent Advances in Virus Diagnosis*, McNulty MS, et al eds, 37-46, Martinus Nijhoff Publishers, Boston (1984)
- [20] Houe H, Meyling A : Prevalence of bovine virus diarrhoea (BVD) in 19 Danish dairy herds and estimation of incidence of infection in early pregnancy, *Prev Vet Med*, 11, 9-16 (1991)
- [21] Houe H, Baker JC, Maes RK, Wuryastuti H, Wasito R, Ruegg PL, Lloyd JW : Prevalence of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in 20 dairy herds in two counties in central Michigan and comparison of prevalence of antibody-positive cattle among herds with different infection and vaccination status, *J Vet Diagn Invest*, 7, 321-326 (1995)
- [22] Taylor LF, Van Donkersgoed J, Dubovi EJ, Harland RJ, van den Hurk JV, Ribble CS, Janzen ED : The prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in a population of feedlot calves in western Canada, *Can J Vet Res*, 59, 87-93 (1995)
- [23] 小佐々隆志, 田島誉士, 大橋和彦, 小沼 操 : 臨床症状を指標とした牛ウイルス性下痢ウイルスの汚染状況調査, *日獣会誌*, 57, 511-514 (2004)
- [24] Kozasa T, Tajima T, 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)
- [25] Matsuno K, Sakoda Y, Kameyama K, Tamai K, Ito A, Kida H : Genetic and pathobiological characterization of bovine viral diarrhoea viruses recently isolated from cattle in Japan, *J Vet Med Sci*, 69, 515-520 (2007)
- [26] Radwan GS, Brock KV, Hogan JS, Smith KL : Development of a PCR amplification assay as a screening test using bulk milk samples for identifying dairy herds infected with bovine viral diarrhoea virus, *Vet Microbiol*, 44, 77-91 (1995)
- [27] Houe H, Baker JC, Maes RK, Ruegg PL, Lloyd JW : Application of antibody titers against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with BVDV, *J Vet Diagn Invest*, 7, 327-332 (1995)
- [28] Seki Y, Seimiya YM, Yaegashi G, Sato C : Identification of herds with cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus by virological evaluation of three calves, *J Vet Med Sci*, 68, 255-258 (2006)
- [29] Seki Y, Seimiya YM, Motokawa M, Miyazaki H, Konno M, Yaegashi G : Field application of the combination of neutralizing test and virus isolation, so-called spot test, to detect herds including cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus, *J Vet Med Sci*, 69, 1087-1089 (2007)

Surveillance of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Dead Cattle in Iwate Prefecture

Kazuhiro FUKUNARI^{1)†}, Gakuji YAEGASHI¹⁾, Shin CHIBA¹⁾ and Kenichiro KAMEYAMA²⁾

1) *Iwate Prefecture Central Livestock Hygiene Service Center, 390-5 Sunagome, Takizawa-mura, Iwategun, 020-0173, Japan*

2) *National Institute of Animal Health, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba-shi, 305-0856, Japan*

SUMMARY

During the 25 months from March 2011 to March 2013, a total of 9,362 medulla oblongata samples collected from dead adult cattle (two years or older) and used for bovine spongiform encephalopathy (BSE) surveillance at 2,203 farms in Iwate Prefecture, Japan. The samples were utilized to investigate the prevalence of bovine viral diarrhoea (BVD) in the area. BVD viruses (BVDVs) were detected from 36 cattle (0.38%) on 31 farms (1.41%). A significant difference was observed in each BVDV detection rate of 22 cattle (1.72%) that were two years old at death and 25 dairy farms (1.76%). In comparison to the results of this research, the percentage of genotype 2 in isolated viruses was high (22.2%). These results suggest that monitoring the infection in dairy cattle and the spread of genotype 2 viruses is important for eradication of BVDV in Iwate. It was also concluded that medulla oblongata samples obtained from dead cattle are useful for efficiently investigating BVDV prevalence and epidemiology.

—Key words : Bovine viral diarrhoea virus, dead cow, epidemiology, genotype, medulla oblongata.

† Correspondence to : Kazuhiro FUKUNARI (Iwate Prefecture Central Livestock Hygiene Service Center)
390-5 Sunagome, Takizawa-mura, Iwategun, 020-0173, Japan
TEL 019-688-4111 FAX 019-688-4012 E-mail : k-fukunari@pref.iwate.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 66, 785 ~ 790 (2013)