

# 1 牛白血病ウイルス高度汚染農場における清浄化の試み

熊谷家畜保健衛生所

○向井 海渡・山中 梨沙・御村 宗人

国立研究開発法人理化学研究所

間 陽子

## I はじめに

地方病性牛白血病(EBL)は牛白血病ウイルス(BLV)を原因とし、平成 26 年には全国で 2,415 頭が発生するなど<sup>1)</sup>、全国的に増加傾向にあり、その拡大が危惧されている。現在、EBL にはワクチンや有効な治療法は存在せず、その対策は BLV 感染牛の淘汰及び非感染牛への新たな BLV 感染の防止のみである<sup>2)</sup>ため、多くの BLV 陽性農家では、思うように清浄化対策が進んでいないのが実情である。現行の EBL 診断法の 1 つとして、感染リンパ球から BLV プロウイルス遺伝子を検出する PCR 法(Nested PCR 法、Realtime PCR 法及び Direct PCR 法)があるが、近年、国立研究開発法人理化学研究所(以下、「理研」)が開発した BLV-CoCoMo-qPCR 法により、正確に BLV プロウイルス量を正確に定量し、未知を含めた全ての BLV 変異株を検出することが可能となった<sup>3)</sup>。さらに、牛白血病発症を規定する *BoLA-DRB3* 遺伝子を発見したことで、EBL 発症に対して抵抗性を示す牛(以下、「抵抗性牛」)の存在が明らかとなった。

今回、管内 3 酪農家(A、B 及び C 農家とする)において、A、B 農家は理研と共同で、C 農家は県単独で牛白血病検査を実施し、清浄化対策を指導したのでその概要を報告する。

## II 抵抗性牛を利用した新たな BLV 対策

従来、繋ぎ形式の牛舎では、陰性牛への吸血昆虫による BLV 伝播を防ぐため、BLV 陽性牛から 2 つ以上空房を挟んだ上で、陰性牛を配置するよう指導してきた。しかし、飼養頭数、牛の順位及び他の疾病の発生状況等により、空房を作ることが難しい場合が多くあった。

抵抗性牛は、BLV に感染しても、生涯に渡って血中のプロウイルス量を低く抑え、EBL を発症することは極めて稀である。このことから、間陽子ユニットリーダーらにより、BLV 陽性牛と陰性牛の間に抵抗性牛を配置することで、抵抗性牛を「生物学的防壁」として利用する、新たな BLV 陽性牛隔離対策が提案された(図 1)。

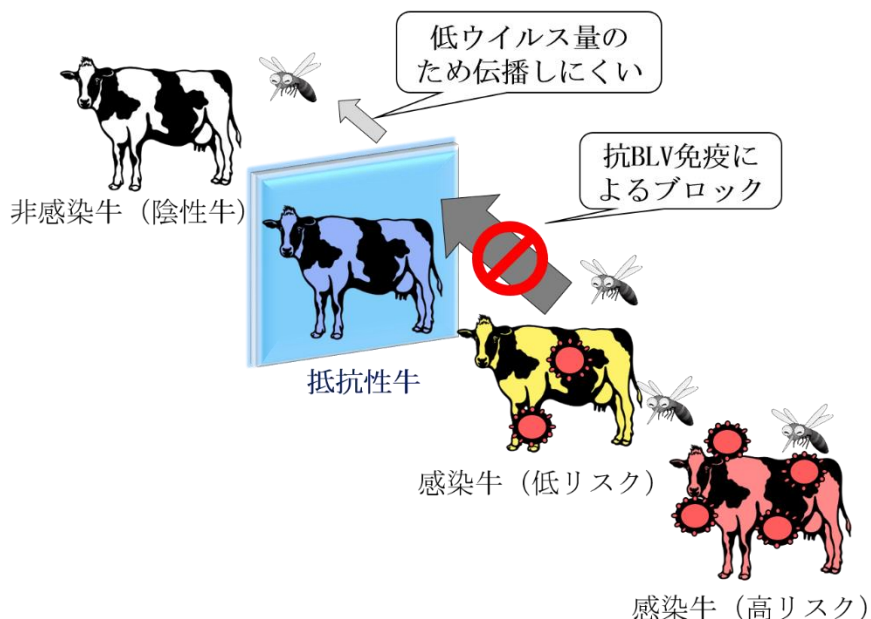


図1 抵抗性牛を生物学的防壁として利用

### III 対象農家の概要と検査方法

A 及び B 農家は、全頭で牛の遺伝情報を解析するため、BLV-CoCoMo-qPCR 法と抗体検査(p24-SP 及び gp51-SP)を実施し、BLV 伝播リスクと BLV 発症抵抗性の有無を判定した。プロウイルス量 0 かつ抗体陰性の牛を陰性牛、プロウイルス量  $<10^4$ copies/ $10^5$ 細胞の牛を BLV 伝播低リスク牛、プロウイルス量  $>10^4$ copies/ $10^5$ 細胞の牛を BLV 伝播高リスク牛と定義した。

C 農家は、全頭で抗体検査(牛白血病エライザキット)を実施した。さらに、抗体陽性牛については遺伝子検査(Realtime PCR 法、タカラバイオ CycleavePCR)及び血液塗沫による末梢血の観察を実施し、BLV 伝播リスクを判定した(表 1)。また、6 か月齢未満の子牛 10 頭については遺伝子検査法のみを実施した。

表 1 対象農家概要と検査方法

	A農家	B農家	C農家
種類	酪農家	酪農家	酪農家
飼養頭数 (採血時)	83頭	58頭	284頭
飼養形態	搾乳牛…繋ぎ 乾乳牛 } パドック 育成牛 } 子牛…ペン		成牛…フリーストール 育成牛…パドック 子牛…ペン (成牛と育成牛は別牛舎)
従業員数	3名	3名	8名
検査	理研と共同実施 ・BLV-CoCoMo-qPCR法 ・BLV抗体検査 ・EBL発症抵抗性牛の特定		県単独で実施 BLV抗体検査(全頭) ↓ 抗体陽性牛のみRealtime PCR法 (タカラバイオCycleavePCR)と 血液検査を実施

#### IV 検査成績

##### 1 A 農家

高リスク牛は成牛 18 頭(32%)、育成牛・子牛は 3 頭(18%)、計 21 頭(25%)、低リスク牛は成牛 27 頭(48%)、育成牛・子牛は 18 頭(67%)、計 45 頭(54%)、高リスク牛と低リスク牛を合わせると、成牛 45 頭(80%)、育成牛・子牛 21 頭(78%)、計 66 頭(80%)であった。一方、抵抗性牛は成牛 3 頭(5%)、育成牛・子牛 2 頭(7%)、陰性牛は成牛 8 頭(14%)、育成牛・子牛 4 頭(15%)であった(表 2)。

表 2 A 農家検査成績

リスク評価	成牛(頭)	育成牛・子牛(頭)	合計(頭)
陰性牛	8	4	12
抵抗性牛	3	2	5
低リスク牛	27	18	45
高リスク牛	18	3	21
合計	56	27	83

##### 2 B 農家

高リスク牛は成牛 20 頭(48%)、育成牛・子牛は 3 頭(19%)、計 23 頭(40%)、低リスク牛は成牛 16 頭(38%)、育成牛・子牛 10 頭(63%)、計 26 頭(45%)、高リスク牛と低リスク牛を合わせると、成牛 36 頭(86%)、育成牛・子牛 13 頭(81%)、計 49 頭(84%)であった。一方、抵抗性牛は成牛 6 頭(14%)、育成牛・子牛 2 頭(13%)、陰性牛は成牛 0 頭(0%)、育成牛・子牛 1 頭(6%)であった(表 3)。

表 3 B 農家検査成績

リスク評価	成牛(頭)	育成牛・子牛(頭)	合計(頭)
陰性牛	0	1	1
抵抗性牛	6	2	8
低リスク牛	16	10	26
高リスク牛	20	3	23
合計	42	16	58

##### 3 C 農家

274 頭の抗体検査対象牛のうち、抗体陽性牛は 137 頭で、抗体陽性率は 50%であった。さらに抗体陽性牛 137 頭に子牛 10 頭を加えた 147 頭の遺伝子検査において、106 頭が遺伝子検査陽性で、そのうち、プロウイルス量が 20copies/ng DNA 以上<sup>4)</sup>の個体 6 頭、10copies/ng DNA 以上かつ EC の鍵・Bendixen の鍵<sup>5)6)</sup>が真性・陽性の個体 14 頭の計 20 頭を BLV 伝播リスクの高い牛と判断した。

## V 清浄化指導

BLV 検査成績を踏まえ、3 農家に、表 4 のとおり清浄化対策案を指導した。また、A 及び B 農家については、さらに搾乳牛舎における、抵抗性牛を利用した陰性牛・陽性牛の分離案を図 2 のとおり示した。分離案を作成する上では、牛舎外に隣接するパドックの位置や牛舎内の風向き等を考慮し、より吸血昆虫による被害を受けにくい場所に陰性牛を配置し、搾乳等の作業動線の上流とした。

表 4 提案した清浄化対策案

1	陰性牛・陽性牛の分離飼育 (A、B 農家は抵抗性牛を利用)
2	高リスク牛の早期淘汰
3	吸血昆虫対策
4	BLV 陽性母牛の初乳対策
5	除角時の出血対策
6	陰性牛や新生子牛の定期的 BLV 検査
7	感染牛に目印を付ける「リスクの見える化」
8	非感染牛のみを預託する公共牧場の利用

A 農家



B 農家

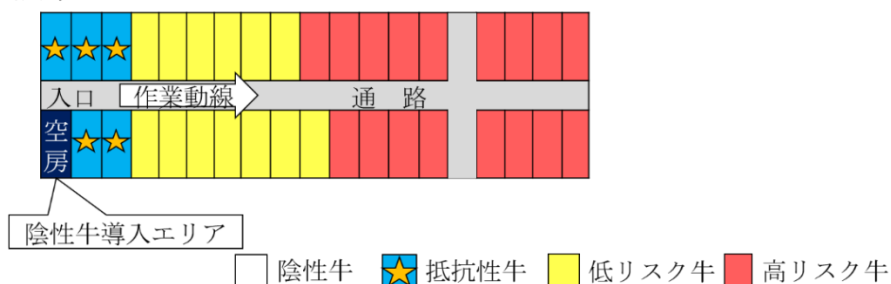


図 2 A 及び B 農家の抵抗性牛を利用した分離飼育案

## VI 指導後の農家の防疫対応

### 1 A 農家

搾乳牛舎における、抵抗性牛を利用した分離を実施し、全ての陰性牛に耳票型吸血昆虫駆除剤を装着した。また、母牛からの初乳給与を中止し、人工初乳へ切り替え、若齢の陰性牛は、BLV 陰性牛のみを預託する埼玉県秩父高原牧場へ預託した。

## 2 B 農家

A 農家と同様に、搾乳牛舎における、抵抗性牛を利用した分離を実施した。また、提案した分離案と、従来の搾乳方向とが逆であったため、搾乳方向を変更し、風上に陰性牛が位置するように、搾乳牛舎内送風機の向きを変更した。両農家とも次の夏までに搾乳牛舎周囲に防虫ネットを設置予定である。

## 3 C 農家

7頭の高リスク牛を淘汰し、母牛が BLV 陽性の場合、新生子牛は母牛から早期分離することとした。また、育成牛舎では、陰性牛及び陽性牛の分離飼育をした上で、牛同士の接触を完全に防止するため、両群の間に木製の板で、高さおよそ 2 m の壁を設置した (図 3)。さらに、初乳は加温と凍結処理を施し、子牛はペンから群飼 (育成牛舎) に移行する前に BLV 遺伝子検査を受検し、感染の有無を明確にしたのち、陰性牛群又は陽性牛群に加えることとした。そして吸血昆虫対策として、成牛舎及び育成牛舎において、吸血昆虫駆除剤 (幼虫対策として IGR 剤、成虫対策としてピレスロイド系殺虫剤) を定期的に散布している。



陰性牛群同士が接するパドック

陰性牛群と陽性牛群が接するパドック  
(壁を設置)

図 3 C 農家における育成牛舎の分離飼育と壁

## VII 考察

理研との共同検査により、従来よりも正確なプロウイルス量の定量によるリスク評価と、BLV 発症抵抗性牛の特定が可能となった。抵抗性牛は、分離飼育時の生物学的防壁として利用できるだけでなく、牛群に占める抵抗性牛の割合を増やしたり、育種の新たな指標として取り入れたり、新たな BLV 対策に応用できることが考えられる。

一方で、フリーストールでは、分離飼育が難しい上に、繋ぎ牛舎のように、抵抗性牛を生物学的防壁として利用することは難しい。また、抵抗性牛は BLV の感染そのものを防ぐことができるわけではないため、BLV の撲滅には、吸血昆虫対策、初乳対策等、従来の BLV 対策も重要であると言える。陽性牛の割合が半分を超えるような、高度汚染農場の清浄化には、10 年単位の時間がかかるため<sup>7)</sup>、畜主のモチベーションが低下することが考えられる。これを防ぐためにも、家畜保健衛生所職員が、こまめに農家に立入り、BLV 清浄化へのアドバイスや、情報提供を行うと共に、定期的に BLV 検査を実施することで、対策の効果を示すことが重要であると考えられる。

参考文献

- 1)小西美佐子：日獣会誌, 68, 352～354(2015)
- 2)農林水産省：牛白血病対策ガイドライン(2015)
- 3)間陽子：革新技術で牛白血病ウイルスから牛を守る, 家畜症感染症学会誌, 5 巻 2 号別冊(2016)
- 4)三村ら(大分県食肉衛生研究所)：リアルタイム PCR を用いた血中における BLV 遺伝子の定量とその考察
- 5)K. Ishihara et al. :Clinical Studies on Leukemia in Japanese Black Cattle, Jap. J. vet. sci. 4
- 6)小沼操：牛白血病の実態と今後の課題について, 動薬研究 No. 28, 7～13(1982)
- 7)今内覚：牛白血病 最近の知見と対策について, 動薬研究, No. 71, 1～11(2015)