

1 リアルタイムPCR法を活用した牛白血病清浄化対策

熊谷家畜保健衛生所

○宮田 基・田口 清明

I はじめに

牛白血病ウイルス（以下、BLV とする）の感染により引き起こされる地方病性牛白血病の清浄化対策は、多岐にわたり、各地で取り組みが行われているが、全国的に抗体陽性率やと畜場での摘発件数が増加している。¹⁾

農場における清浄化対策では、飼養管理の変更に伴う労力や淘汰などの経済的な負担のほか、従来から実施している抗体検査のみでは淘汰の順位付けができないことなどが課題と考えられる。

リアルタイムPCRは、血中のBLV 遺伝子量により伝播リスクを評価することで、淘汰の順位付けが可能で¹⁾、本県では平成26年度に導入した。

今回、管内の3農家について、リアルタイムPCRを活用した清浄化対策を実施したので、概要を報告する。

II 検査成績と指導概要

1 A農家

(1) 農家概要

和牛繁殖経営で成牛28頭、育成牛4頭、子牛8頭をフリーストール・フリーバーン形式で飼育し、後継牛は、主に自家産で確保している。(図1)

また、子牛への哺乳用に乳牛を1頭飼育している。

平成26年に、繁殖牛1頭が牛白血病を発症したため、清浄化へ向けた取り組みを開始した。

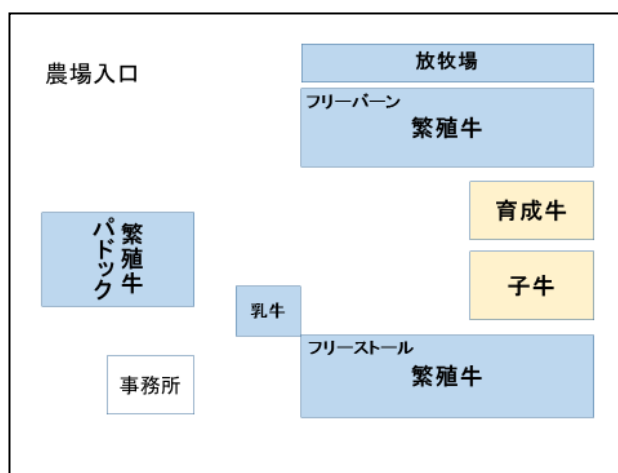


図1 A農家見取り図

(2) 検査成績

平成26年9月、平成27年2月及び11月に繁殖牛と今後繁殖に供する予定の育成牛を対象に、抗体検査・遺伝子検査を実施した。(表1)

1回目の検査では、11頭(36.7%)が抗体陽性、8頭が定性PCR陽性で、遺伝子量は最大114.9 copies/ng DNAであった。

2回目の検査では、1回目に採材できなかった個体を含め、15頭(46.9%)が抗体陽性となり、8頭が定性PCR陽性、遺伝子量は最大160.6 copies/ng DNA、3回目の検査では、11頭(34.4%)が抗体陽性、6頭が定性PCR陽性、遺伝子量は最大49.7copies/ng DNAであった。

表1 A農家の検査結果

採材日	飼育頭数 (検査頭数)	抗体検査 陽性頭数	遺伝子検査	
			定性PCR 陽性頭数	リアルタイムPCR 遺伝子量 (copies/ng DNA)
H26. 9	32 (30)	11	8	～ 114.9
H27. 2	35 (32)	15	8	～ 160.6
H27. 11	34 (32)	11	6	～ 49.7

(3) 指導と対策

ア 感染牛と非感染牛の分離飼育

感染牛は、牛舎内を仕切り緩衝帯を設け分離し、今後、陽性率の低下にあわせ牛舎を分離する。

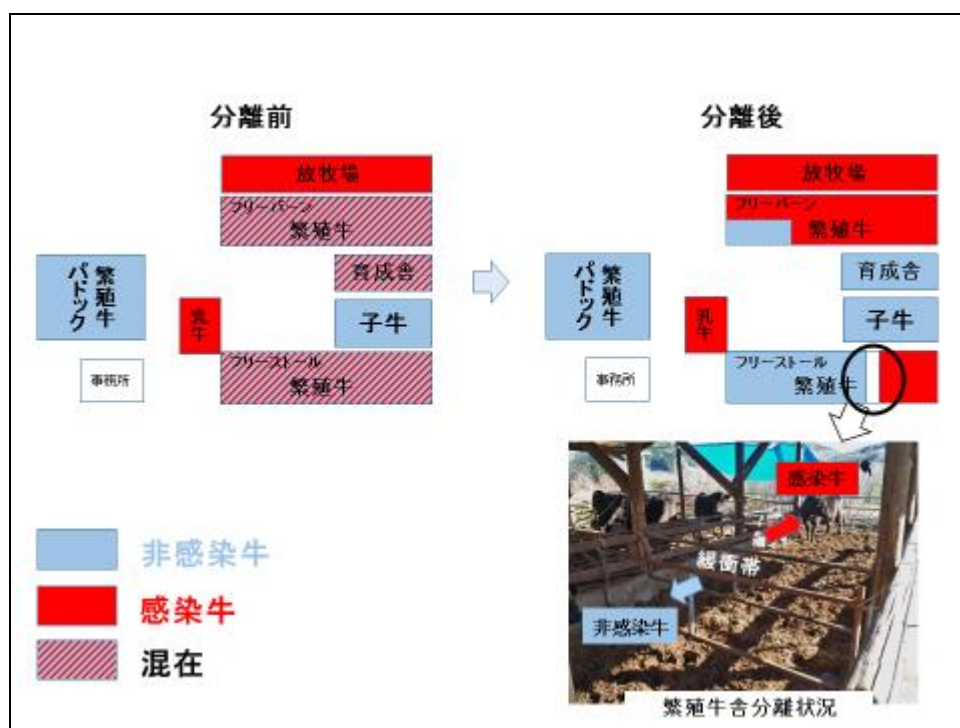


図2 A農家の分離飼育状況

イ 感染牛の計画的な淘汰・更新

遺伝子量が多い個体を計画的に淘汰・更新するよう指導し、これまで感染牛6頭を淘汰・更新し、3月までにさらに3頭を淘汰する予定である。今後、定期的に検査しリスク評価により、感染牛は順次淘汰する。

ウ 垂直感染の防止

子牛給与乳は加熱処理後給与し、後継牛は非感染牛から確保することとした。

(4) 陽性率の推移(表2)

2回目の検査では、2頭が陽転し、また、新たに採材した牛が陽性だったため、陽性率は54.3%に増加していた。

清浄化対策の結果、越夏後の3回目では、新たな陽転はなく、陽性率は38.2%に低下していた。

表2 陽性率の推移

採材日	飼育頭数 (繁殖・育成牛)	抗体陽転 頭数	陽性頭数 [※]	陽性率(%)
H26. 9	32	-	12	37.5
H27. 2	35	2	19	54.3
H27. 11	34	0	13	38.2

※抗体またはPCR 陽性頭数

(5) 今後の分離計画(図3)

感染牛の淘汰を進め、来年3月までに感染牛をフリーバーンに非感染牛をフリーストール牛舎に分離し、早期の清浄化を図る。

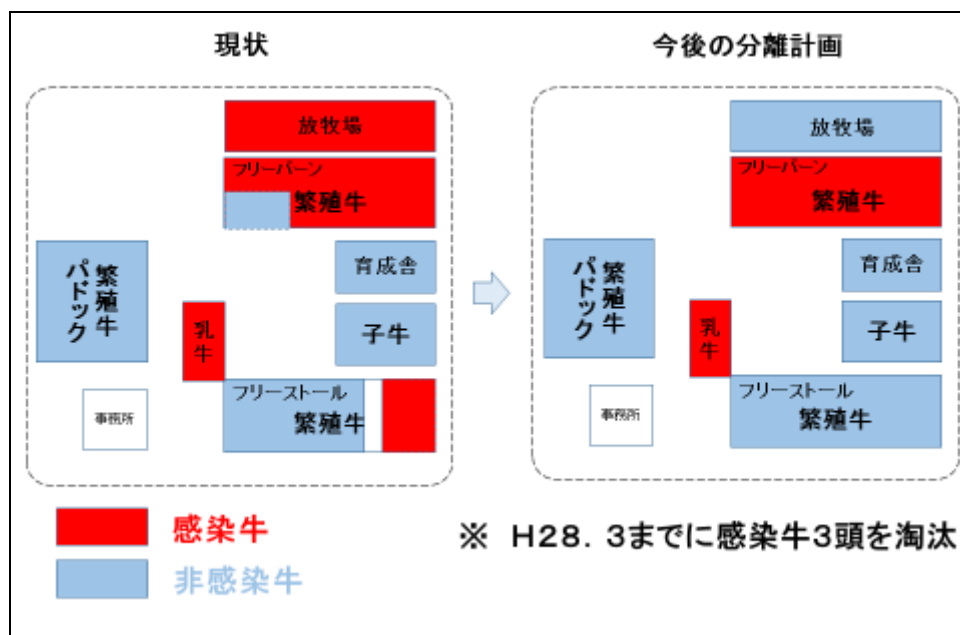


図3 A 農家の分離飼育状況

2 B農家

(1) 農家概要

酪農経営で、成牛48頭、育成牛19頭、子牛3頭を飼養し、フリーストールと繋ぎを併用している。(図4)

平成21年と平成22年に廃用牛が牛白血病として摘発され、24年に実施した抗体検査では、87.5%と陽性率が高く、公共牧場への預託前検査で育成牛が陽性になるなどしたため、畜主と後継者が本格的な清浄化を希望し、診療獣医師から指導依頼があった。

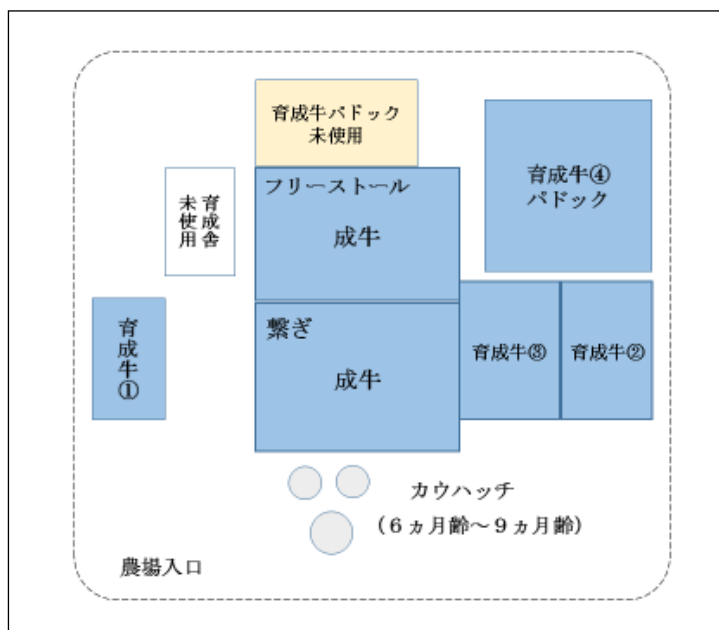


図4 B農家見取り図

(2) 検査結果とリスク評価(図5)

平成27年6月に遺伝子検査を実施した結果、定性PCRで62頭が陽性で陽性率は92.5%と、平成24年の抗体陽性率よりも高率で、遺伝子量は最大1244.6 copies/ng DNAであった。

遺伝子量により、成牛、育成牛毎に陰性のA群から高リスクのE群の5段階にリスク評価した結果、成牛は、陽性率89.6%、遺伝子量100copies/ng DNA以上が52%を占め、うち2頭は1000copies/ng DNA以上であった。育成牛は全頭が定性PCR陽性で、うち2頭が100copies/ng DNA以上で、BLVが高度に浸潤していることが確認された。

1 検査結果				
採材日	飼育頭数 (検査頭数)	定性PCR 陽性頭数	リアルタイムPCR 遺伝子量 (copies/ng DNA)	陽性率(%)
H27.6	70 (67)	62	~ 1244.6	92.5
(H24抗体陽性率 87.5%)				
2 リスク評価				
リスク群	遺伝子量 (copies/ng DNA)	頭数		
		成牛	育成牛	
A群: 陰性	—	5	0	
B群: 低	< 10	10	13	
C群: 中低	< 100	8	4	
D群: 中	< 1,000	23	2	
E群: 高	1,000 ≤	2	0	

図5 検査結果とリスク評価

(3) 指導と対策

ア 感染牛と非感染牛の分離飼育

リスク評価に基づき感染牛の分離飼育案を作成し提示したが、陽性率が高く、フリーストールと繋ぎ間で成牛を移動することは困難なため、畜主と協議し、遺伝子量が特に多い個体のみ繋ぎ牛舎に分離した。

今後は、子牛・育成牛、導入牛を検査し、リスク評価により分離し、徐々に分離を進めることとした。

イ 管理作業順序の変更

高リスク牛は最後に搾乳することとした。

ウ 計画的な淘汰・更新

リスク評価に基づく計画的な淘汰・更新を指導し、感染牛6頭を淘汰した。

(4) 現在の分離飼育状況と今後の計画 (図6)

現状は特に遺伝子量の多い個体を繋ぎ牛舎の一部に分離するのみだが、今後は、子牛・育成牛・導入牛をリスク評価により分離し、徐々にリスクの低い個体を繋ぎ牛舎に、集約することとした。

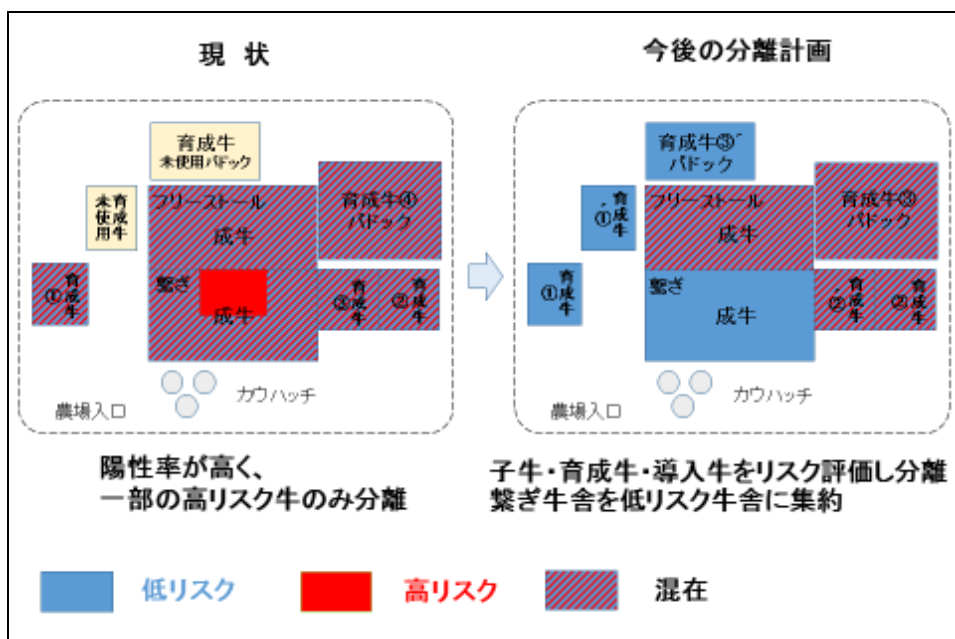


図6 C農家の分離飼育状況

3 C農家

(1) 農家概要

酪農家経営で、成牛45頭、育成17頭、子牛5頭を繋ぎ形式で飼養している。

(図7)

6月に民間の検査機関の検査で1頭からBLV遺伝子が検出されたため、診療獣医師から浸潤状況の把握と指導の依頼があった。

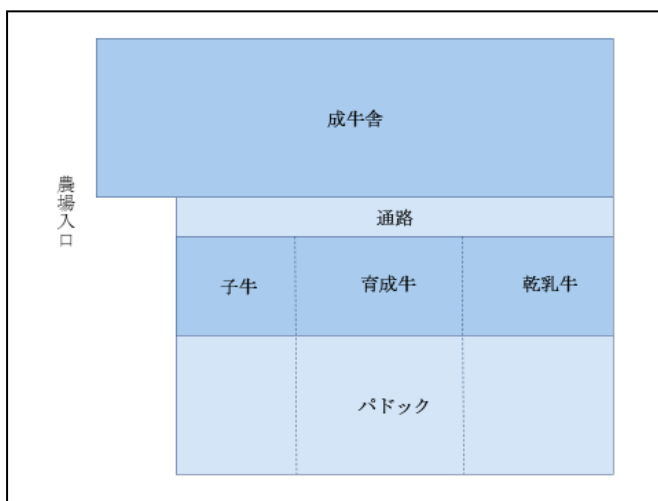


図7 C農家見取り図

(2) 検査成績(表3)

抗体検査はすべて陰性で、定性PCRでは67頭中4頭が陽性であった、リアルタイムPCRでは、遺伝子量はすべて検出限界未満で、現時点で伝播リスクの高い個体はいなかった。

表3 C農家の検査成績

採材日	飼育頭数 (検査頭数)	抗体検査 陽性頭数	遺伝子検査		陽性率%
			定性PCR 陽性頭数	リアルタイムPCR 遺伝子量 (copies/ng DNA)	
H27. 9	67 (67)	0	4	検出限界未満	6.0

(3) 指導と対策

ア 伝播リスクを監視

定期的に行い、遺伝子量の増加が認められたら順次淘汰することとした。

イ 陰性牛の導入

導入する場合は導入前に検査を行い、感染していないことを確認することとした。

III まとめと考察

A農家は清浄化対策への取り組みにより、吸血昆虫が発生する越夏後の陽転もなく、陽性率は53.4%から38.2%に低下した。これは、飼養管理を徹底したうえで実施した、感染牛の分離飼育、計画的な淘汰が効果的であったと考えられた。今後は、定期的に行い、徹底した分離飼育とリスク評価に基づく計画的な淘汰・更新を進め、早期の清浄化を目指す。

B農家は、抗体陽性率が高かったため、畜主の意欲が低下し、対策が不十分で、BLVが高度に浸潤し、

成牛の分離飼育は困難でした。リアルタイムPCRによるリスク評価を行い、淘汰の順位付けや分離飼育の具体例を提示したことで、畜主の意欲が回復し、継続的な対策の実施が可能となった。今後は、子牛・育成牛、導入牛の検査を実施し、リスク評価により分離し、引き続き感染拡大防止を進めることで陽性率を低下させる。

C農家は、陽性率が低く、伝播リスクの高い個体もいなかった。今後は、定期的な検査による監視を継続し、遺伝子量が増加した場合は順次淘汰し、清浄化を図る。

牛白血病の清浄化対策は、農場ごとに陽性率や飼育形態が異なり、清浄化に向けたアプローチも農場により異なるため、個別の清浄化計画の作成が必要となる。リアルタイムPCRを活用し、感染牛をリスク評価することで、淘汰の順位付けや適正な分離飼育が可能で、これにより、清浄化対策のための労力や経済的負担を軽減し、清浄化への意欲を維持・向上することができる。

本事例を参考に、引き続き、牛白血病清浄化対策を推進していく。

VI 参考文献

- 1) 牛白血病に関する衛生対策ガイドライン（農林水産省消費・安全局、平成27年4月2日公表）