

完了試験研究成績（2012年1月作成）

実施課題名：牛白血病清浄化対策推進方法の検討

担当部署名：島根県家畜病性鑑定室

担当者名：石倉洋司

協力分担：

予算(期間)：県単（2009-2011年度）

1. 目的

従来、牛白血病清浄化対策は、牛白血病ウイルス(BLV)抗体陽性牛の淘汰を基本として実施してきた。しかしながら、この対策方法を陽性率の高い農場において実施することは、経営を存続するうえで非常に困難である。そのため、これらの農場では清浄化への取組が滞り、さらには BLV まん延の一要因となっている。

本研究では、清浄化対策実施モデル農場にて BLV 伝播リスクの評価と牛白血病発症に係わる宿主因子の解析等を行い、得られたデータをもとにウイルス伝播リスクを低減させ、清浄化へ誘導できる飼養衛生管理方法を検討し、実効性のある清浄化対策方法を構築する。

2. 方法

(1) BLV 抗体陽性率の高い酪農家 2 戸（農家 A：つなぎ飼い牛舎・約 40 頭規模、B：放し飼い式牛舎・約 90 頭規模）をモデル農場として用い、BLV 感染牛における伝播リスクの評価法の検討及び伝播要因の検証を行った。

①伝播リスク評価法の検討

採材対象は、ELISA 法によるプレテストを行い、農場毎に ELISA 値の高い順に並べて 3 分割し、各分割から 6 頭ずつ抽出して計 36 頭とした。静脈血を採材し、BLV 抗体検査として ELISA 法、寒天ゲル内沈降反応法ならびに受身赤血球凝集反応法を、抗原検査としてリアルタイム PCR 法による遺伝子定量検査を実施した。また、同時に直腸検査も実施し、直腸検査用手袋の付着物について遺伝子の検出を試みた。

②BLV 感染牛における血中 BLV 遺伝子量と抗体価の年間推移の調査

①と同一牛について、3 ヶ月毎に 1 年間、静脈血を採材し（計 5 回）、ELISA 法と遺伝子定量検査を実施した。

③モデル農場における抗体陽性率の推移

飼養衛生管理の変更（つなぎ飼い牛舎では牛の並び替え）ならびに伝播リスクの高い個体の優先淘汰を実施した。

(2) 別のつなぎ飼い式牛舎の酪農家 2 戸（農家 C：約 25 頭規模、D：約 50 頭規模）において、BLV 感染牛の完全分飼と非分飼の状態における抗体陽性率の推移と水平感染要因の検討を行った。

3. 研究期間を通じての成果の概要

(1) BLV 感染牛における伝播リスク評価法の検討と伝播要因の検証

BLV 抗体陽性牛 28 頭のうち、ELISA 抗体価の高い個体は、血液中 BLV 遺伝子量が多い傾向が認められた。また、血液中 BLV 遺伝子量が多い個体 (10^4 コピー/ μgDNA 以上) の直腸検査用手袋付着物から、直腸検査時の目視による出血の有無に関わらず BLV 遺伝子を検出したことから、BLV 感染牛のリスク評価法としての ELISA 法の有効性ならびに手袋連続使用の水平伝播リスクを実証することができた (図 1)。(2009)

(2) BLV 感染牛における血中 BLV 遺伝子量と抗体価の年間推移

年間を通して採材できた感染牛 24 頭（新規感染牛除く）の個体ごとの血液中 BLV 遺伝子量の変動は少なく、 10^4 コピー/ μ gDNA 以上の群（多い群）と 10^2 コピー/ μ gDNA 以下の群（少ない群）に大別された（図 2）。抗体価についても、BLV 遺伝子量の多い群は少ない群と比べて ELISA 値は高く推移し、年間の変動が少なかったことから、1 回の ELISA 検査で感染伝播リスクを評価できることがわかった。（2010）

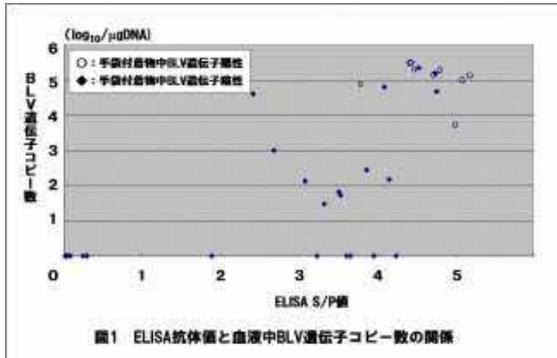


図1 ELISA抗体価と血液中BLV遺伝子コピー数の関係

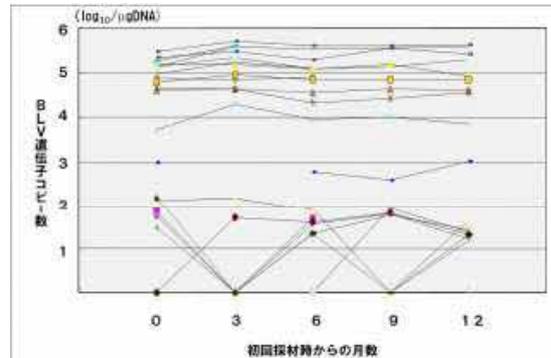


図2 血液中BLV遺伝子コピー数の経時推移

(3) モデル農場における抗体陽性率の推移

つなぎ飼い式牛舎（農家 A）と放し飼い式牛舎（農家 B）の比較において、牛の並び替えを実施した A では抗体陽性率の減少がみられたが（H20.12：71.1%→H21.12：60.5%）、放し飼い式牛舎では減少しなかった（H20.12：85.1%→H21.12：87.2%）。（2009）

(4) つなぎ飼い式牛舎における完全分飼と非分飼の違いによる抗体陽性率の推移

BLV 感染牛の完全分飼（農家 C）と非分飼（農家 D）の比較において、抗体陽性率は C で 7.6%（13 頭中 1 頭）、D で 14.8%（27 頭中 4 頭）と、陽性率に差はあるものの、いずれも水平感染があったものと考えられる。なお、完全分飼における感染原因は特定することができなかった。（2011）

4. 研究期間を通じての成果の要約

BLV 感染牛の血液中 BLV 遺伝子量及び ELISA 抗体価は、分娩等の生態生理に影響を受けることはなく、単回の ELISA 検査で感染伝播リスクを評価できることから、抗体陽性牛の淘汰更新の優先順位付けや、隔離・群分け、搾乳順等の清浄化対策に活用できる。
[キーワード] BLV、ELISA、感染伝播リスク

5. 成果の活用と留意点

- (1) つなぎ飼い牛舎においては、直腸検査用手袋の使い回し等の人為的要因の排除、初乳処理などの飼養衛生管理の改善に加えて、伝播リスク評価を基にした並び替えや分飼、伝播リスクの高い個体の優先淘汰により清浄化を推進できると考えられる。
- (2) 放し飼い式牛舎の場合は、つなぎ飼いのように個体ごとの飼養管理ができないため、抗体陽性率の高い農場では飼養衛生管理の改善や高リスク牛の優先淘汰による清浄化には長期間を要すると考えられる。

6. 残された問題とその対応

抗体陽性率の高い農場ならびに放し飼い式牛舎における、清浄化期間短縮のために、群飼になる前段階での子牛の清浄化（垂直感染牛の早期摘発、後継牛からの排除）、新規編入育成牛群への水平感染を防止するために飼養衛生管理を徹底し、農場内のウイルス量を減少させなければならない。そのため、育成牛群での感染源となる垂直感染牛、感染伝播高リスク牛の子牛段階での判定方法を検討する必要がある（遺伝子検査以外の方法、垂直感染牛を産出するリスクの高い母牛を絞り込む指標の検討）。