

## 【試験研究】

# 子牛（黒毛和種）への感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムの確立

石井圭子<sup>1)</sup>, 杉山明子<sup>2)</sup>, 津波 修<sup>2)</sup>ほか

1) 家畜衛生試験場 2) 北部家畜保健衛生所

### 【はじめに】

牛白血病ウイルス（以下 BLV）の感染によって起こる牛白血病の病態は、①無症状、②持続性リンパ球増多症、③致死性リンパ肉腫（牛地方病性白血病/EBL）と大きく3つに分類される。生産現場で問題となる EBL は発症率 5%程度でもおもに成牛で確認されていたが、若齢期に BLV に感染すると発症しやすい傾向が知られている（図 1）。近年、牛白血病の発生が全国的に増加傾向で、とくに肉用牛においては従来の病態とは異なり、若齢肥育期でも度々発生がみられることから問題がより深刻化し、本病に対する効果的な対策が強く求められている。

子牛の白血病対策として BLV 感染阻止が最も重要であり、経乳感染対策、BLV 感染牛との隔離、BLV 伝播高リスク母牛の摘発淘汰が行われるが（図 2）、自然哺乳が一般的な黒毛和牛の生産形態において、母牛から初乳を採取し加温・凍結処理後に子牛へ投与することが困難なこと、初乳給与が免疫付与の観点から重要であること、BLV がまん延している農場では感染牛の

淘汰は経済的負担が大きいことを考慮する必要がある。そこで、現実的かつ効果的な黒毛和種子牛への BLV 感染阻止対策を確立することを目的として、2013-2015 年に BLV 野外感染実態調査を実施したので、その概要を報告する。また、調査結果に基づき、黒毛和種子牛への BLV 感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムを設定し、生産者への周知徹底を行うとともにプログラムの有用性について 2018 年に追跡評価を行ったので併せて報告する。

### 【調査内容】

1. 黒毛和種子牛における BLV 感染疫学調査（とくに初乳給与による感染リスクの検証）

乳汁中に含まれる単核細胞のうち、BLV 感染細胞である B 細胞は、初乳では 15~20%と低いのが常乳では 50%と高くなること、初乳中の免疫グロブリン含量はホルスタイン種よりも黒毛和種のほうが高く、BLV を感染防御する移行抗体が多く含まれると推測された。そのため、新生子牛に対し初乳のみを給与し、BLV 感染リスクを検証した。

### 牛白血病

**【原因】**  
牛白血病ウイルス (BLV) レトロウイルス科レトロウイルス属 RNAウイルス  
※**リンパ球**を標的とし、細胞DNAに組込まれて存在  
※人の成人T細胞性白血病の原因ウイルスと近縁

**【病態】**  
1度感染すると、生涯ウイルスと抗体を保持  
病態進行はウイルスではなく宿主側要因

- ①無症状キャリア（臨床症状なし） 60%
- ②持続性リンパ球増多症(PL) 30-35%
- ③致死性リンパ肉腫（地方病型牛白血病/EBL） 5%  
若齢期に感染すると発症しやすい




図 1

**【BLV伝播経路】**  
血液や乳汁が感染源

- ①水平感染：直腸検査など（人為的）  
感染牛の血液をアブなどの吸血昆虫が媒介（機械的）
- ②垂直感染：子宮内・産道感染、経乳感染

**【子牛へのBLV感染防止対策】**

- ①BLV感染牛との隔離
- ②子宮内・産道感染防止：高リスク母牛の摘発淘汰
- ③経乳感染防止：**初乳対策**

BLV感染牛の初乳は感染源となるという一方で（初乳給与時は加温凍結処理/ウイルス不活化が必要）、初乳中の移行抗体は感染防御可能との報告もある

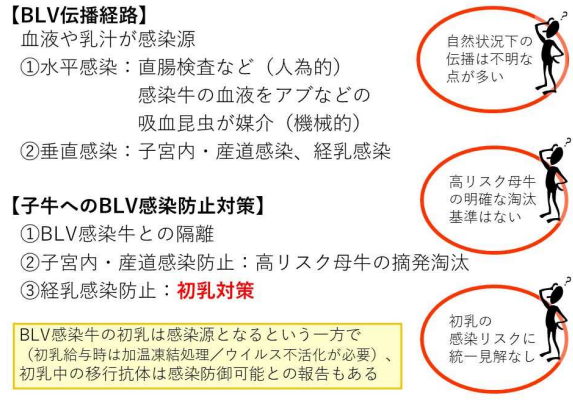


図 2

## 2. 子牛への感染阻止を主体とした飼養管理法の検討（早期母子分離）

BLV は血液や乳汁が感染源となる。直腸検査やアブなどの吸血昆虫の媒介によって伝播し、また前述のとおり、乳汁のうちとくに常乳の摂取によって感染リスクが高まると考えられる。そのため、BLV 感染陽性母牛から生まれた子牛に初乳のみを摂取した後、早期に隔離する飼養管理法の有用性について検証を行った。

## 3. 母子感染（垂直感染）を引き起こす高リスク母牛の淘汰基準の検討

母牛の感染ウイルス量に比例して胎盤を介した子宮内感染や、乳汁を介した子牛への BLV 感染リスクが増大することが知られている。対策として感染ウイルス量が多い母牛を繁殖に用いないことだが、本県における母子感染の実態は不明である。そのため、調査を実施するとともに、BLV 伝播高リスク母牛の淘汰基準について検討を行った。

### 【調査方法】

#### 1. 調査対象農場の設定（図 3、図 4、図 5）

調査対象農場は、①従来から本県で一般的に行われている方法で、子牛が出生した後、他の母子とともに同居させて子牛が離乳するまで群飼する農場（農場 A）、②子牛が出生した後、分娩房内で初乳の自然哺乳を行い、3 日齢以内で早期に母子を分離し、その後は BLV 陰性牛群内で子牛を飼養する農場（農場 B、E）、③群飼から早期母子分離に子牛の飼養管理法を変更した農場（農場 C、D）とした。

#### 2. 調査目的と検査時期

##### [調査 1]

飼養管理別の子牛 BLV 感染率を把握するため、子牛の採血を生後 21～163 日齢で行い、検査を 1 回実施した（農場 A、B、C）。

##### [調査 2]

BLV 感染時期および経路を特定するため、陽性母牛産子については、採血 1 回目は生後 9 日以内、2 回目は 4 ヶ月以降のセリ出荷時（219-321 日）とし、陰性母牛産子の採血は 4 ヶ月以降のセリ出荷時のみとした（農場 D）。

##### [調査 3]

母牛が保有する BLV 遺伝子量の違いによる子牛の子宮内感染および経乳（初乳）感染の発生

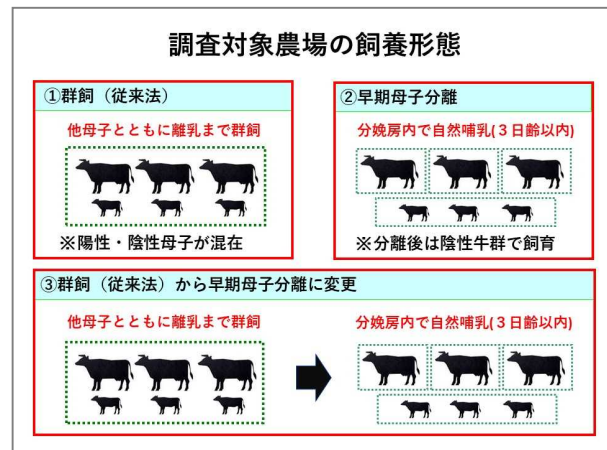


図 3 調査対象農場の飼養形態



図 4 群飼（従来型）農場の様子



図 5 早期母子分離農場の様子

リスクを検証するため、陽性母牛産子の採血 1 回目は生後 9 日以内、2 回目は 4 ヶ月以降のセリ出荷時（219-321 日）に行った（農場 E）。

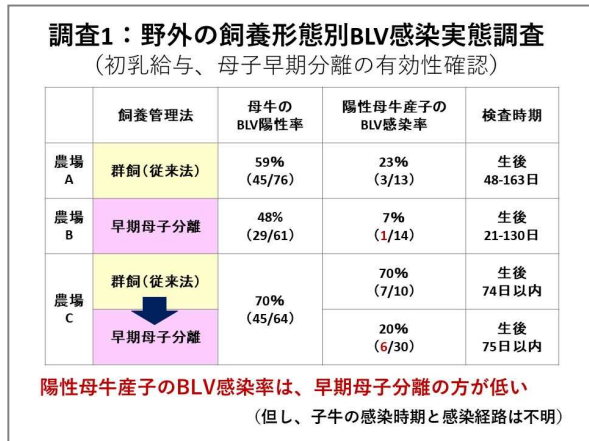


図 6

### 3. 調査材料と検査方法

EDTA 血および血清 (母牛 285 頭, 産子 177 頭 / のべ) を用い (1) 抗体検査: 受身赤血球凝集試験 (PHA) または ELISA 法, (2) BLV 遺伝子抽出: QIAamp DNA MiniKit (QIAGEN) で EDTA 血 200 μl より DNA 抽出, (3) 遺伝子検査: BLV Nested PCR 法 (Fechner らの方法) (4) 遺伝子量測定 (q-PCR): CyclicleavePCR 牛白血病ウイルス検出キット (TaKaRa) (5) 遺伝子解析: ダイレクトシーケンス法による BLV env 遺伝子 gp 領域の塩基配列決定後, 系統樹解析を実施した.

#### 【結果】

飼養管理方法の異なる 3 農場において子牛 BLV 感染率を比較した結果, 母牛 BLV 感染率 50% 程度の農場 A と農場 B において, 群飼を行っている農場 A の子牛 BLV 感染率は 23%, 早期母子分離を行っている農場 B の子牛 BLV 感染率は 7% であった. また, 農場 C は群飼時の子牛 BLV 感染率 70% が, 早期母子分離に変更後は 20% に低下した (図 6). 次に, 子牛の BLV 感染時期と経路を特定するため, 群飼から早期母子分離に変更した農場 D において, 採血 1 回目を生後 9 日以内, 2 回目を生後 4 ヶ月以降のセリ出荷時と設定して検査した結果, BLV 陽性母牛産子 20 頭中 1 頭に生後 9 日以内の検査で感染が確認され (子牛 A), 他の 19 頭は生後 9 日以内および生後 4 ヶ月以降のセリ出荷前時のいずれも陰性だった. また, BLV 陰性母牛産子 31 頭は, 生後 9 日以内の検査では全頭陰性だったが, 生後 4 ヶ月以降のセリ出荷時の検査

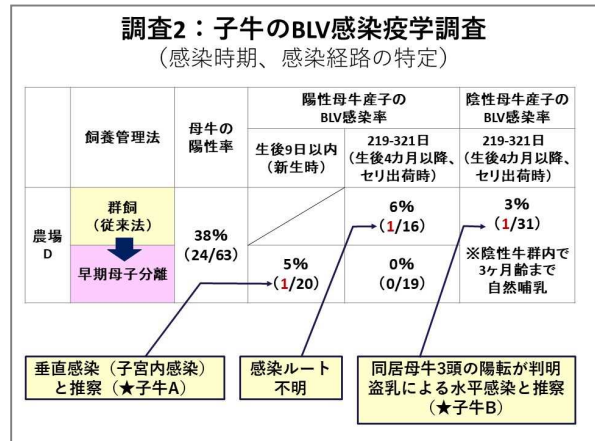


図 7

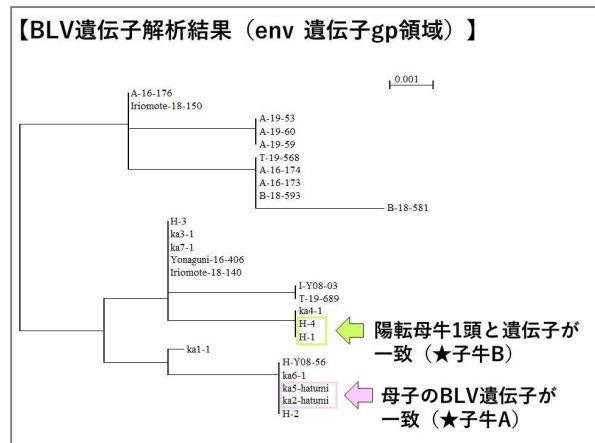


図 8

で 1 頭に感染が確認された (子牛 B) (図 7). BLV 感染子牛 2 頭 (子牛 A, B) について遺伝子量測定と遺伝子解析を実施したところ, 子牛 A は母牛と BLV 遺伝子が一致し, 母牛と同程度の  $10^3$  copies/100ngDNA のウイルス量を保有していたため子宮内感染と判定した. 子牛 B は, 陰性牛群内で飼養されていたが, 実際には牛群内に陽性母牛 3 頭が紛れていたことが再検査で判明した (検査時にウインドウ期または検査後に感染と推察). 同居の陽性母牛 3 頭のうち 1 頭と子牛 B の BLV 遺伝子が一致したことから, 陽性母牛の常乳の摂取または機械的伝播による水平感染と判定した (図 8). 子牛群において初乳摂取によると思われる感染は確認されなかった. なお, 群飼時の陽性母牛産子 1 頭については, 生後 5 ヶ月齢まで陽性牛と同居していたため BLV 感染経路は不明とした.



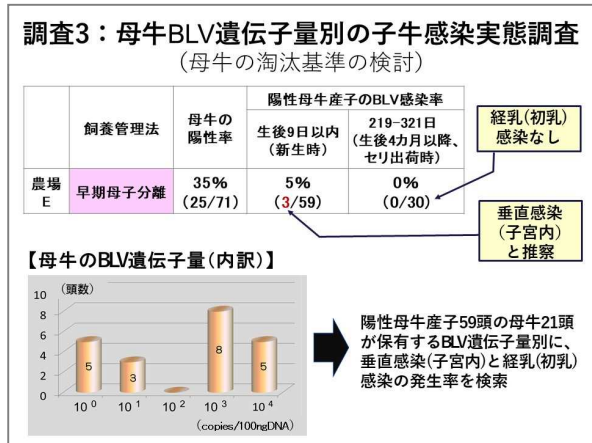


図 9

続いて、早期母子分離を行っている農場 E において、母牛が保有する BLV 遺伝子量別に子宮内感染および経乳(初乳)感染について検査を実施した。その結果、BLV 陽性母牛産子 59 頭中 3 頭に生後 9 日以内の検査で感染が確認された。BLV は感染後約 1 カ月で検出されることから、これら 3 頭の子牛は子宮内感染と判定した。また、生後 4 ヶ月以降のセリ出荷前時に検査を実施した 30 頭はいずれも陰性であった。

次に BLV 陽性母牛 21 頭の保有するウイルス量 (copies/100 ngDNA) を測定したところ、その内訳は  $10^0$  が 5 頭、 $10^1$  が 3 頭、 $10^3$  が 8 頭、 $10^4$  が 5 頭であった (図 9)。子宮内感染が認められた 3 頭の子牛の母牛 BLV 遺伝子量は  $10^3$  または  $10^4$  copies/100 ngDNA で、子宮内感染の発生率はそれぞれ 8.3%、6.7%であった。経乳(初乳)感染は母牛の遺伝子量にかかわらず確認されなかった (図 10)。

#### 【「沖縄県肉用牛(黒毛和種)牛白血病感染防御基本指針」の策定】

以上の調査結果から、①自然哺乳下で初乳給与すること、②早期母子分離(約 3 日)を行うこと、③感染牛と隔離すること(陰性牛群の清浄性確保)、④垂直感染高リスク母牛の早期摘発・淘汰をすることが黒毛和種子牛への感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムとして有用と判断した。そこで、2015 年 6 月に本プログラム内容を反映させて「沖縄県肉用牛(黒毛和種)牛白血病感染防御基本指針」(以下、基本指針)を策定した (図 11)。

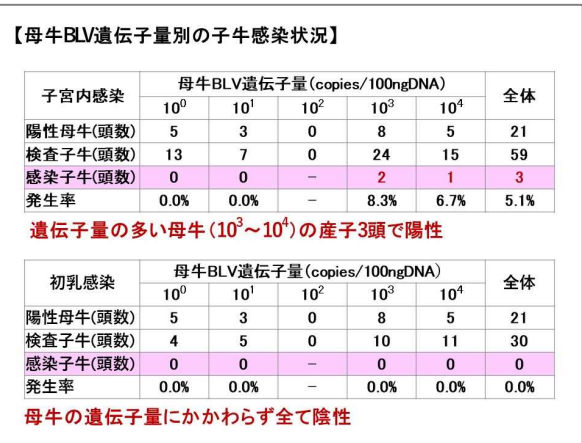


図 10

### 沖縄県肉用牛(黒毛和種)牛白血病感染防御基本指針の策定

子牛への感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムを確立

- ・自然哺乳下で初乳を給与
- ・早期母子分離(生後約3日)
- ・感染牛から隔離(陰性牛群の清浄性維持)
- ・垂直感染リスク母牛を早期摘発・淘汰

上記内容を基本指針に反映させ、生産者へ指導を行う

基本指針策定(2015年6月)

図 11

### 生産者への基本指針の周知、対策強化指導

【家畜保健衛生所における対応】

1. 家保職員または外部講師による牛白血病講習会の開催
2. 牛白血病摘発農場の生産者に対し病性鑑定を通じて個別指導
3. 牛白血病対策強化農場の設定

北部地域	14 戸
中央地域	6 戸
宮古地域	29 戸
八重山地域	12 戸

図 12

#### 【プログラムの有用性に関する追跡評価】

基本指針策定後、県内各地域で開催される講習会や病性鑑定を通じて生産者に対して周知と対策強化指導を行った (図 12)。その結果、

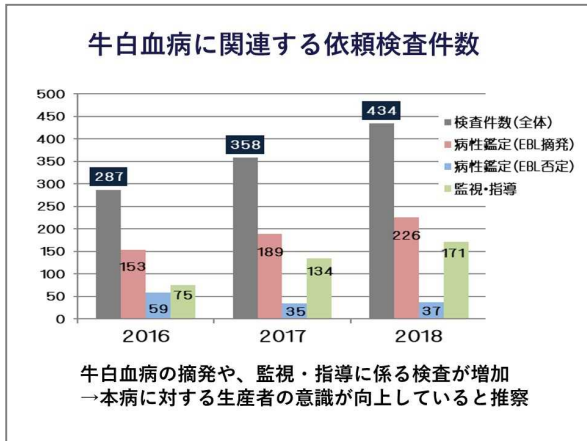


図 13

牛白血病の摘発や監視・指導にかかる検査依頼が増加し、本病に対する生産者の意識が向上した(図 13)。また、牛白血病対策強化農場を設定し、家保と生産者が連携して対策を進めることにより BLV 陽性率の低下あるいは BLV 清浄化を達成した農場が確認され(図 14, 図 15)、前述した黒毛和種子牛への感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムの有用性が示された。

#### 【まとめと考察】

2013-2015 年に黒毛和種子牛における野外 BLV 感染実態調査を実施した。[調査 1]において、飼養管理別の陽性母牛産子の BLV 感染率は、群飼よりも初乳給与後の早期母子分離(3日)の方が低く、また群飼から早期母子分離に変更することによって感染率が低下することが明らかとなった。[調査 2]においては、陽性母牛産子の BLV 感染経路は初乳ではなく子宮内感染であることが判明し、陰性母牛産子で確認された BLV 感染の原因は、離乳後に飼養されていた陰性牛群内に陽性母牛が紛れていたことによる水平感染であった(清浄性管理の失宜)。[調査 3]では、陽性母牛産子の垂直(子宮内)感染は、母牛が保有する BLV 遺伝子量が  $10^3$ copies/100 ngDNA 以上の場合で起こることが判明したが、陽性母牛の初乳を摂取することによる BLV 感染は確認されなかった。以上の調査結果から、①自然哺乳下で初乳給与、②早期母子分離(約 3 日)、③感染牛と隔離(陰性牛群の清浄性確保)、④垂直感染リスク母牛の

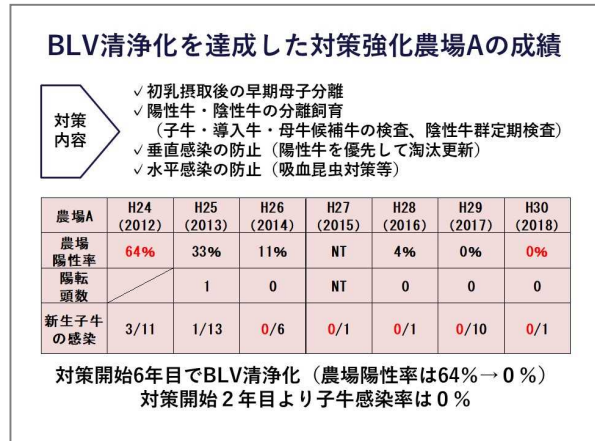


図 14

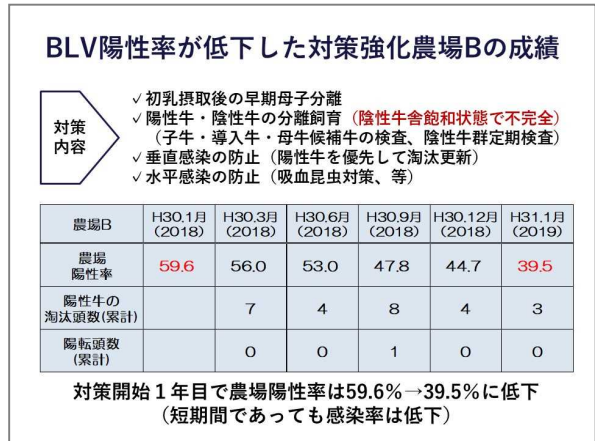


図 15

早期摘発・淘汰が黒毛和種子牛への感染阻止を主体とした牛白血病コントロールプログラムとして有用と判断した。その後、2016年6月に基本指針を策定後、生産者への周知と対策強化指導を行ったところ生産者の意識向上と対策強化農場においてその効果が確認された。

牛白血病対策は感染牛を排除することだが、既に BLV がまん延している状況では感染経路とリスクを把握した上で対策を講じ、生産活動を維持しながら長期的な視野で新たな感染を防ぎ非感染牛を増やしていくことが現実的である。とくに早期に大量のウイルスに暴露されると発症しやすい傾向があるため、子牛の早期感染防御が必須である。また、各農場によって実施可能な対策も異なるため、現場に即した指導を継続し、清浄化または発生の低下により生産者の経済的損失を軽減させることが重要と考える。

## 【参考文献】

- [1] 小原ら: 黒毛和種牛の初乳成分と子牛への初乳給与法, 北獣会誌, 45(8) 239(2001)
- [2] Ohtsuka, H et al: Effect of parity on lymphocytes in peripheral blood and colostrum of healthy Holstein dairy cows, Can J Vet Res, 74(2):130-135(2010)
- [3] 小西美佐子: 地方病性牛白血病(EBL), 日獣会誌, 68, 352-354(2015)
- [4] 今内覚: 牛白血病—最近の知見と対策について—, 動薬研究 71, 1-11(2015)
- [5] 千葉由純, 鈴木千尋, 小笠原房恵, 村井知恵: 牛白血病ウイルス感染母牛における子宮内感染の発生状況, 岩獣会報, 40, 46-48(2014)
- [6] 松田敬一ら: 臨床現場での牛白血病清浄化対策と問題点, 家畜感染症学会誌 7(4), 153-162(2018)
- [7] 村上賢二, 小林創太, 筒井俊之: 我が国の地方病性牛白血病的発生動向と対策—その現状と課題—, 日獣会誌, 62, 499-502(2009)
- [8] 村上賢二: 地方病性牛白血病—近年の流行状況, 感染伝播様式, 防疫対策と牛白血病に関する衛生対策ガイドライン—, 岩獣会報, 43(2), 7-11(2017)
- [9] Mekata H et al.: Horizontal transmission and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in two districts of Miyazaki Japan, J Vet Med Sci, 77(9), 1115-1120 (2015)
- [10] Mekata H et al.: Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus, Vet Rec, 176(10), 254-254 (2015)
- [11] 目堅博久: 牛白血病ウイルス感染症の検査法とその特徴, 産業動物臨床医誌, 6, 増刊号, 221-226(2016)
- [12] Mekata H et al.: Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source, J Vet Res, 66(3), 157-163(2018)
- [13] Mekata H et al.: New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle, J Vet Med Sci, 80(2), 316-319 (2018)
- [14] Mekata H, Sekiguchi S, Konnai S, Kirino Y, Honkawa K, Nonaka N, Horii Y and Norimine J, Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. Vet Rec. 176, 254(2015)
- [15] 山下将哉, 大城守ほか: 黒毛和種における牛白血病ウイルスの母子感染状況およびまん延防止対策の検討, 平成 21 年度沖縄県業績 (2009)
- [16] 山下将哉ほか: 黒毛和種子牛における牛白血病ウイルス感染防止の一考察, 平成 22 年度沖縄県業績 (2010)