

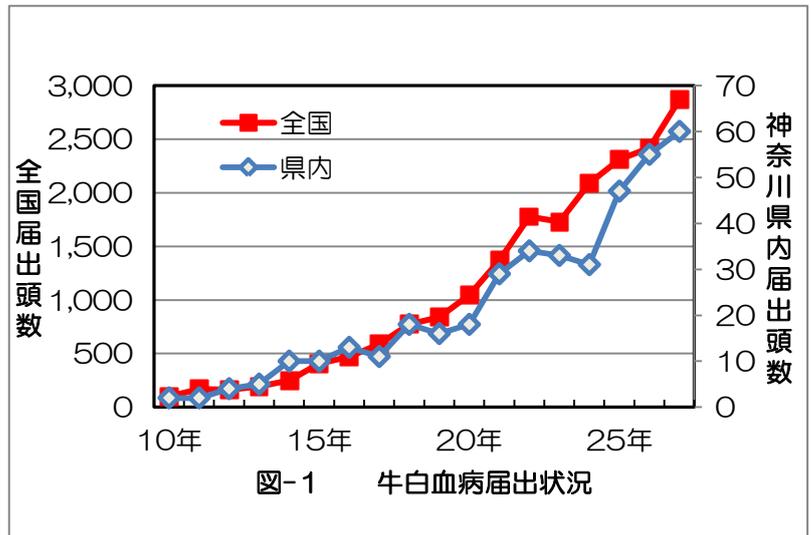
牛白血病浸潤状況とプロウイルス量測定の一考察

湘南家畜保健衛生所

池田 暁史 田村 みず穂
大木 茂実 近田 邦利
杉山 英視 福岡 静男

はじめに

牛白血病（以下、EBL）は、家畜伝染病予防法（以下、法）において平成10年から届出が義務付けられ、当初の届出頭数は、神奈川県内2頭、国内99頭であったが、その後年々増加し、平成27年は県内60頭、国内2,869頭となっている（図-1）。平成28年も10月末で2,500頭を超えており、前年を上回り推移している。牛の監視伝染病の中では発生頭数が突出して多くなっている。



農林水産省は、平成27年4月にEBLに関する衛生対策ガイドラインを策定し、関係機関が一体となって、着手可能な対策に活用するよう促している。当所管内においても、EBLの清浄化を目指して様々な対策を実施している農場があるが、達成した事例はほとんどない。

そのような中、管内A市の牛飼養農場28戸を対象として、東京農業大学と連携し、抗体検査を実施するとともに、抗体陽性牛のプロウイルス量を定量し一定の知見が得られたので報告する。

方法

対象は、28戸885頭でその内訳は酪農経営27戸871頭、肉用繁殖農家1戸14頭であった。検査材料として、平成27年度法第5条に基づく牛ヨーネ病およびブルセラ病検査の余剰血清とEDTA加血液を用い

た。

検査は、自動血球計数装置により白血球数を測定、E L I S A法による牛白血病抗体検査、プロウイルス量は、リアルタイムPCR（CoCoMo-qPCR）法により実施した。

採材時に飼養頭数、導入や預託育成の有無、初乳の加温等の処理、吸血昆虫対策、除角器や耳標アプリケーターの1頭ごとの消毒について聞き取った。また、農場ごとの畜舎の見取り図と牛の配置を記録した。

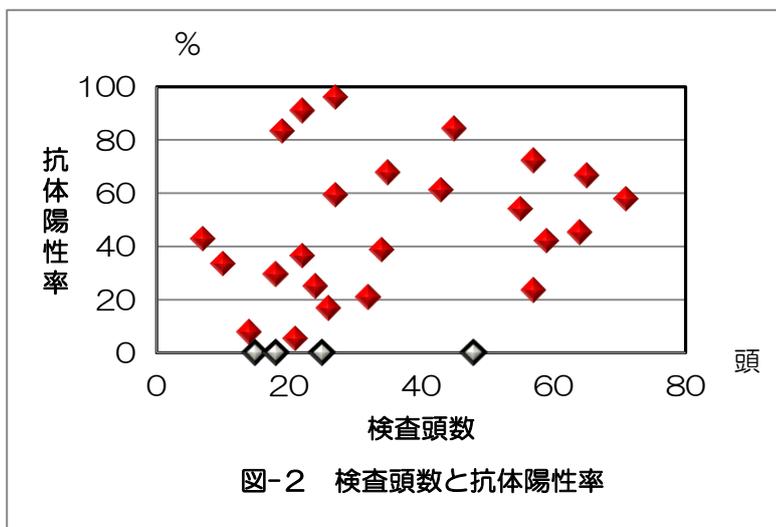
採材時に聞き取った飼養管理方法と農場の抗体陽性牛の有無についてオッズ比を求めた。また、個体のプロウイルス量と月齢、白血球数の相関を、各農場の平均プロウイルス量と抗体陽性率の相関を求めた。

調査結果

（1）抗体検査

885頭のうち410頭が陽性を示し、抗体陽性率は46.3%。各農場の抗体陽性率は、0から96%。農場の抗体陽性牛の実頭数は、0から41頭であった。

図-2のグラフは、28農場の抗体陽性率を縦軸に、検査頭数を横軸にした散布図で、規模の大小に関わらず抗体陽性率が高い農場がみられ、また、同様に陰性農場も様々な規模で4農場認められた。



（2）要因のオッズ比

採血時に農場の飼養管理の方法等を聞き取り、それぞれの要因が抗体陽性率にどの程度寄与しているかオッズ比を用いて分析した。いずれの要因も有意差は認められなかった（表-1）。なお、フィッシャーの直接確立法によりP値を求めた。

抗体陰性農場においては、すでにEBLの対策を中止していた農場もあった。

表-1 管理方法のオッズ比

	オッズ比	P値
導入	10.57	0.102
預託	4.20	0.311
子牛群飼	0.33	0.555
初乳処理	0.17	0.269

(3) 地理的要因

国土地理院の地図を参考に農場周辺の土地利用状況と農場所在地の標高を調べ、立地による抗体陽性率との相関を求めた

(表-2)。山間地域や周辺を畑に囲まれている農場の抗体陽性率が高く、住宅地や水田に立地する方が低い傾向があったが、有意差は認められなかった。標高は、10~130mの範囲にあったが相関は0.31であった。

表-2 立地による抗体陽性率

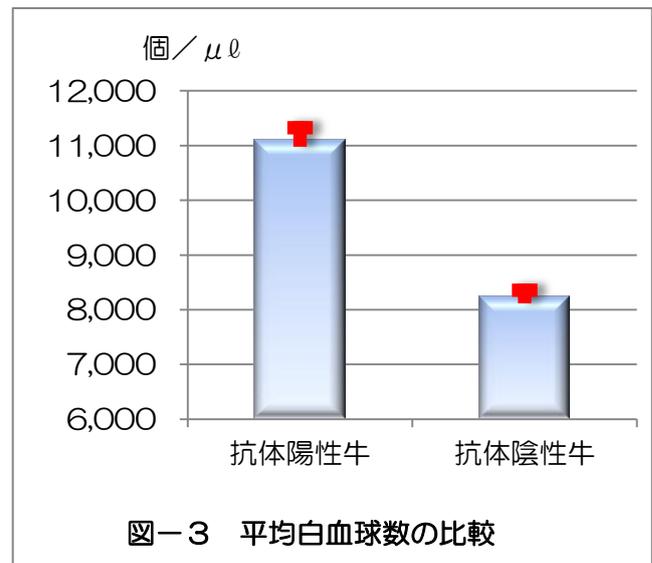
農場の立地	平均抗体陽性率	P値
宅地・田・畑	34.4	0.184
山麓・山間	49.5	

(4) 抗体陰性農場の特徴

すべての牛が抗体陰性であった4農場では、すべての農場で近年牛を導入していなかった。また、飼養管理方法では、出血を伴う除角や耳標装着などの作業に使用する器具を1頭ごとに消毒する農場は、3農場だった。2農場が子牛を群飼しており、初乳対策や吸血昆虫対策はすべての農場で未実施であった。

(5) 平均白血球数

抗体陽性牛と抗体陰性牛の平均白血球数を比較したところ、抗体陰性牛は $8,237 \pm 116$ 個/ μl で、抗体陽性牛は $11,097 \pm 226$ 個/ μl と有意に高い値だった(図-3)。月齢別に平均白血球数を求めグラフ化したところ、概ね40ヶ月齢以上になると抗体陽性牛の平均白血球数がより高い傾向で、差は高齢になるほど顕著になっていた(図-4)。しかし、抗体陽性牛に白血球数が低い個体や、抗体陰性牛に高い個体がいるため、明確な境界値を設けることは困難と思われた。



(6) 検査個体のプロウイルス量

通常、プロウイルスは1つの細胞に1つ侵入しているため、 $100,000$ copies/ 10^5 cellsが上限となるが、 $100,000$ copies/ 10^5 cellsを超えるプロウイルスが検出されることがあり、これらの牛は重要な汚染源になると考えられている。図-5のグラフは、各個体のプロウイルス量を棒グラフで示したもので、赤い部

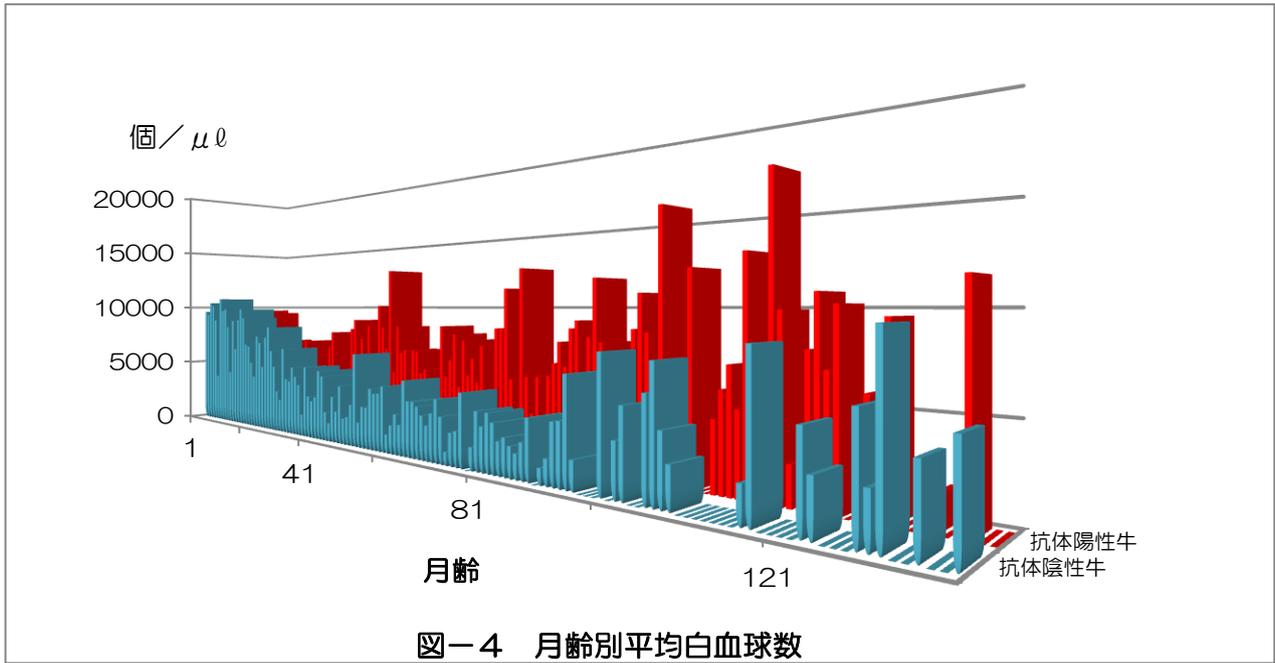


図-4 月齢別平均白血球数

分は100,000copies/10⁵cells以上の牛を示しており、今回の検査では48頭が含まれていた。プロウイルス量の最も多い牛は、374,024copies/10⁵cellsを示しており、これらの牛は、より周囲にウイルスを伝播させる可能性が高いと考えられた。

(7) 平均プロウイルス量との相関

プロウイルス量について農場の平均をとり、農場の抗体陽性率や飼養規模との相関を調べた。個体ごとのプロウイルス量については、個体の白血球数、月齢との相関をそれぞれ調べた(表-3)。

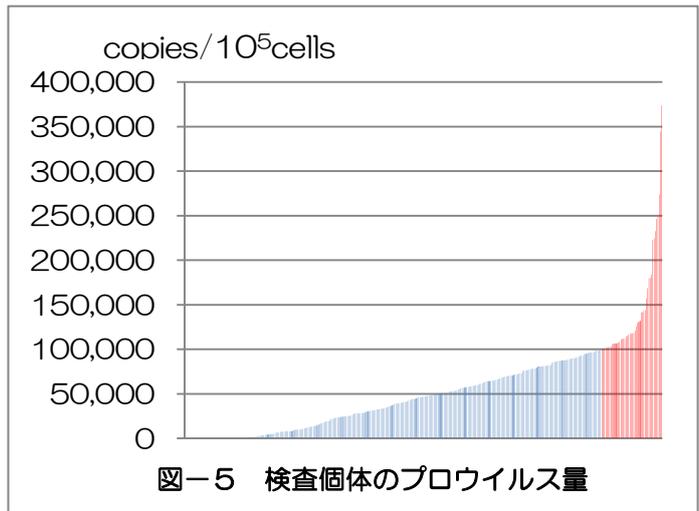


図-5 検査個体のプロウイルス量

白血球数については中等度の相関が認められたが、それ以外の項目に相関は認められなかった。

表-3 相関係数

(8) プロウイルス量が農場の抗体陽性率に及ぼす影響

農場の平均プロウイルス量について、いくつかの指標を比較したが明確な相関や有意差は得られなかった。そこで、プロウイルス量の高い牛を飼養している農場とそうでない農場について抗体陽性率を比較した(表-4)。

当初、100,000copies/10⁵cells以上の牛から着目したところ、差

農場平均プロウイルス量	
抗体陽性率	0.358
検査頭数	0.312
プロウイルス量	
白血球数	0.450
月齢	0.047

が認められたため、境界を下げ、40,000copies/10⁵cells以上の牛が飼養されている農場と40,000copies/10⁵cells未満の牛だけの農場の抗体陽性率にまで有意差が認められた。すなわち、40,000copies/10⁵cells以上の牛が存在することは、農場の抗体陽性率を押し上げていると考えられる。

検査結果の回答と指導内容

結果を畜主に伝える際には、一覧表に加え農場見取り図を示し、抗体陽性牛と抗体陰性牛の分離

を指導するとともに、プロウイルス量が多い牛を優先的にとう汰し、より水平感染のリスクを下げるよう提案した¹⁾。

考察

今回実施した検査において、EBLの抗体陽性率は、46.3%で平成21～23年に実施された全国調査での関東地方の陽性率とほぼ一致していた²⁾。農場の飼養頭数と抗体陽性率には一定の傾向は見られなかった。飼養管理の方法による抗体陽性率の相違を見ると、有意差は認められなかったものの、牛を導入していることが農場にEBLをもたらすことが示唆され、また、すべての牛が陰性の農場においては、近年牛を導入していなかったことから、牛を導入することが農場にEBLをもたらすと考えられた。

また、吸血昆虫の生息環境に適していることが、抗体陽性率を高めていると考え、農場の立地について調査したところ、農場が山麓や山間に位置する農場の抗体陽性率が高い傾向にあったが、有意差は認められなかった。

抗体陽性牛と抗体陰性牛の平均白血球数は、抗体陽性牛が有意に高く、40ヶ月齢以上で差がより顕著であった。また、個体のプロウイルス量と白血球数には中程度の相関があった。今回、リンパ球数は測定していないが、リンパ球数はより明確な相関が認められることが予想される。

農場の平均プロウイルス量と抗体陽性率に相関はなかった。今回検査した地域に浸潤して時間が経過していることや飼養形態等の様々な要因が関与していることが原因と考えられる。

40,000copies/10⁵cells以上の牛を飼養している農場の抗体陽性率は有意に高く、これらの牛が水平感染

表-4 最高プロウイルス量と農場の抗体陽性率

copies/10 ⁵ cells	存在農場の平均陽性率	不在農場の平均陽性率	P値
100,000	65.7	24.1	0.000002
90,000	59.3	21.7	0.000328
70,000	57.4	21.1	0.001329
40,000	54.2	19.2	0.010563
30,000	50.5	24.1	0.173673

を助長することにより、抗体陽性率を押し上げていると考えられる。抹消血中のプロウイルス量が14,000copies/10⁵cellsを超えると鼻汁から、18,000copies/10⁵cellsを超えると唾液からプロウイルスが検出される³⁾ことから、プロウイルス量が多い牛は抗体陰性牛から離して配置し、抗体陽性率が高い農場においては、まず、40,000copies/10⁵cells以上の牛を早期とう汰する必要があると考えられる。

課題

E B Lの清浄化に向けた課題として、次の3つが考えられた。

抗体陽性率がある程度低くなると、積極的なとう汰などの対策がとりやすくなるが、抗体陽性率が高い農場では対策を取ろうとする気持ちすら起きなくなってしまう。プロウイルス量を定量することによって、40,000copies/10⁵cells以上の牛を早期とう汰すべき牛として、明確にするとともに、定期的な検査で抗体陰性牛の感染防除を確認するなどして、意欲を維持することが重要と考えられる。

フリーストールや育成パドックの制約で抗体陽性牛と抗体陰性牛が分離飼育できない農場については、現状では対応策がない。まずは、ウイルス量の多い牛を早期とう汰することで、どの程度効果が得られるのか試行したい。

導入牛などの移動牛や抗体陰性牛を繰り返し検査する費用は農場にとって負担となっていること、また抗体陽性牛を積極的にとう汰するためにも、国の事業で実施されている検査手数料の補助やとう汰奨励に対する補助を拡充することが望まれる。今後も、生産者が取り組みやすい対策を提示して少しでも清浄化が進むよう支援したい。

謝辞

東京農業大学 農学部畜産学科 小林朋子助教に深謝する。

引用文献

- 1) Kobayashi S. et al. : J. Vet. Med. Sci. 77(7):861-863(2015)
- 2) Murakami K et al. : J Vet Med Sci 75:1123-1126 (2013)
- 3) Yuan Y. et al. : Virus Res., 210, 248-254 (2015)