

4 管内の牛白血病浸潤状況と検査方法の比較・検討

1. はじめに

牛白血病ウイルス (*Bovine leukemia virus*[BLV]) を原因とする地方病性牛白血病は、届出伝染病であり、全国での発生届出数は、平成 10 年に 99 頭であったのに対し、平成 22 年 (10 月時点) では、1,480 頭と急増している (図 1)。

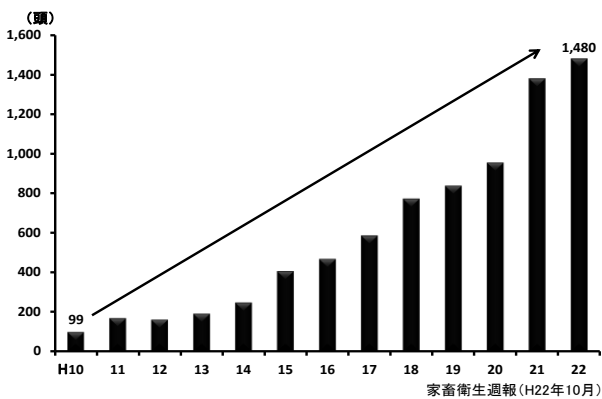


図 1 全国の発生届出数

また、と畜場における発生のうち、当所に報告のあった頭数は、平成 21 年は 13 頭、22 年は 17 頭、23 年は 11 月現在で既に 32 頭となっており (図 2)、近年、管内でも急増していると推察される。

県北家畜保健衛生所

阿部祥次、蓼沼亜矢子、金子大成、田島和彦
県央家畜保健衛生所

米山州二

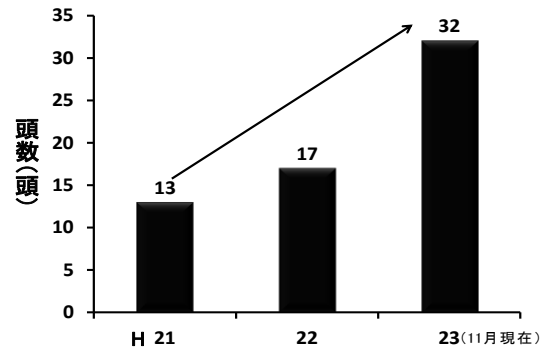


図 2 と畜場での発生届出数 (管内)

一般に、BLV に感染し抗体陽性となっても、発症するものはごくわずか (2~3%)¹⁾ と言われているが、最近、BLV 抗体強陽性牛群では代謝性疾患の発生率が高いという報告もあり²⁾、と畜場での廃棄の急増とともに農家の関心も急激に高まっている。

本病清浄化に有効とされている主な対策として、感染牛の淘汰、感染牛の隔離・分離飼育、初乳管理 (加温・凍結処理)、吸血昆虫の駆除、直腸検査や搾乳順序の変更、出血を伴う処置後の器具の交換及び消毒、導入牛の検査などが挙げられるが、特に感染牛の隔離・分離飼育を行うことによって、効果的に本病の伝播リスクを抑えられると考えられている^{3,4)}。そのためにも、まずは感染牛・非感染牛を正しく把握することが重要である。

現在、本県では、本病の診断において、スクリーニング検査として受身赤血球凝集反応法 (PHA) を実施し、さらに、確定検査として

寒天ゲル内沈降反応法（AGID）を用いた抗体検査（現行法）を実施することにより陽性牛を摘発している。しかし、過去に PHA 陰性、ELISA 陽性となる検体が存在すること、放牧予定牛検査において、本所の検査で PHA 陰性となったが、到着後現地の検査で AGID 陽性のため返却される例があるなど、現行法では BLV 感染牛を見逃す危険性が懸念されている。現在、海外では ELISA のよる抗体検査が主流であり、国内でも ELISA が普及してきている。今回、管内の BLV 浸潤状況を調査するとともに、各種抗体検査の結果を比較し、本病感染牛の把握により効果的な検査法を検討したので概要を報告する。

2. 材料と方法

材料は、飼養規模が 20 頭～700 頭の管内 5 市町の酪農家、計 19 戸、延べ 2,031 頭の血液を用いた。血液は、全て 6 か月齢以上の牛から採取した。

（1）浸潤状況調査

全検体で PHA を実施し、農家毎の陽性率を調べた。さらに、150 頭以上を飼養する大規模農場 2 戸について年齢別の抗体陽性率を調べた。

（2）各種抗体検査結果の比較

全検体のうち 7 戸、1,159 検体について ELISA を実施し、PHA の結果と比較した。次に PHA と ELISA で結果が異なる検体を含む計 34 検体について AGID 及び Nested-PCR (PCR) を実施し、PCR の結果を指標として各種抗体検査の結果を比較した。また、PHA の非特異反応が疑われた検体について、その共通点を検討した。

（3）コスト比較

現行法と ELISA のコストについて比較検討

した。なお、現行法のコストは、今回得られた結果に合わせ、68.9%の検体が PHA で陽性を示し、それらについて AGID を実施したことを想定して算出した。

3. 検査結果

（1）浸潤状況調査

農家毎の抗体陽性率は 14.3%～94.1%となり、平均は 68.9%となった。抗体陽性率を便宜上 3 段階に分類したところ、低度（30%未満）：1 戸、中度（30%～60%）：4 戸、高度（60%以上）：14 戸となり、高度汚染農家が全体の 7 割を占めた。なお、飼養規模の大小と抗体陽性率に関連性は認められなかった（図 3）。

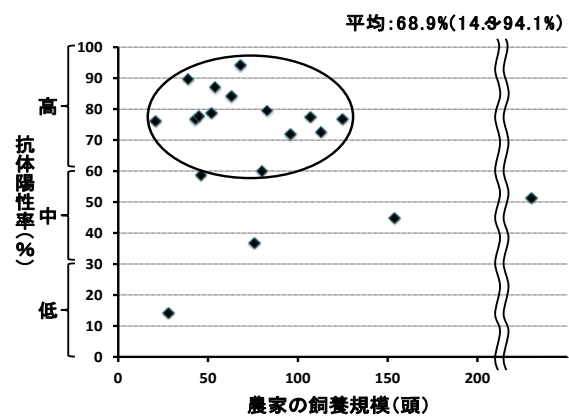


図 3 BLV 浸潤状況調査

年齢別の抗体陽性率は、2～4 歳にかけて急激に上昇し、その後は 8 歳齢まで大きな変化が認められなかった（図 4）。

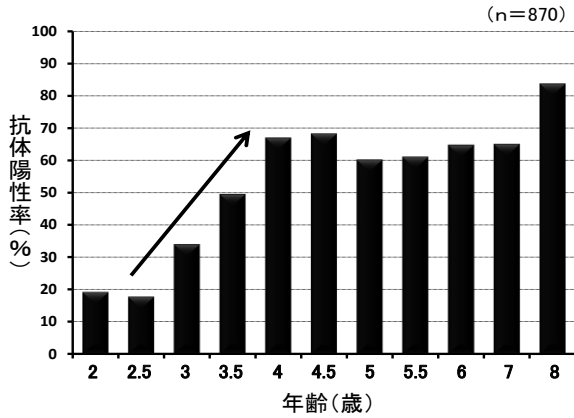


図4 年齢別の抗体陽性率

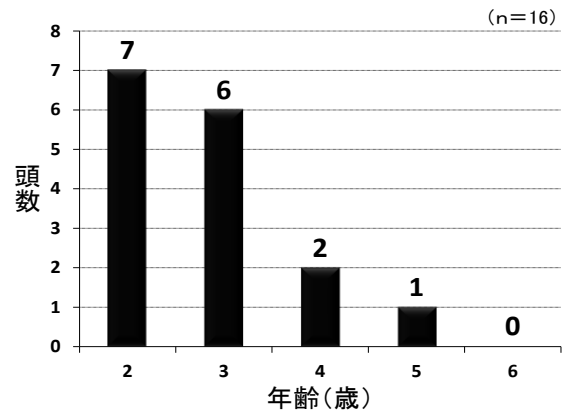


図5 PHAで非特異反応が疑われた検体の年齢別の分布

(2) 各種抗体検査結果の比較

PHAとELISAの結果では、1,159検体中、共に陽性となったものが628検体、陰性が506検体となり、97.8%で結果が一致した。結果が異なった25検体のうち、23検体はPHAのみ陽性、2検体はELISAのみ陽性となった(表1)。

表1 PHAとELISA検査結果の比較

		ELISA		計
		+	-	
P H A	+	628	23	651 (56.2%)
	-	2	506	508 (43.8%)
計		630 (54.4%)	529 (45.6%)	1,159

PHAでのみ陽性を示した23検体のうち、1検体はPCR陽性となったが、17検体についてPCRを実施したところ、16検体はPCR陰性となり、PHAの非特異反応が疑われた。16検体のほとんどは2~4歳齢のものであった。(図5)。

現行法とELISAの結果を、PCRの結果と比較したところ、現行法においては、PHAで非特異反応が疑われた16検体は、AGIDで陰性となったため、現行法の結果はPCRと一致した。しかし、PCR陽性でありながらAGIDで陰性となり、現行法では陰性と判定される例が存在した(7/34)。一方ELISAは33検体でPCRの成績と一致し、1検体においてELISA陰性、PCR陽性となった。従ってPCRとの一致率は、現行法が79.4%(27/34)、ELISAが97.1%(33/34)となり、ELISAの方が高かった(表2)。

表2 各種抗体検査における結果の比較

現行法		ELISA	PCR	検体数
PHA	AGID			
-	-	-	-	10
+	-	-	-	16
+	-	-	+	1
+	-	+	+	6
+	+	+	+	1

79.4%	97.1%	PCRとの一致率	
-------	-------	----------	--

(3) コスト比較

現行法とELISAのコスト比較では、ELISAは、枠で示したように、1~9頭、13~16頭及

び 21 頭で、現行法に比べて 1 円～2,866 円高かったが、それ以外の検査頭数では、頭数に比例してコストが下がり、100 頭では ELISA の方が 11,406 円安価になった（図 6）。グラフが直線でないのは、AGID は 4 検体単位の検査となるため、5 検体目で初めてコストが上がることで、ELISA は 8 検体単位の検査であるため、その倍数でコストが上がることを表している。

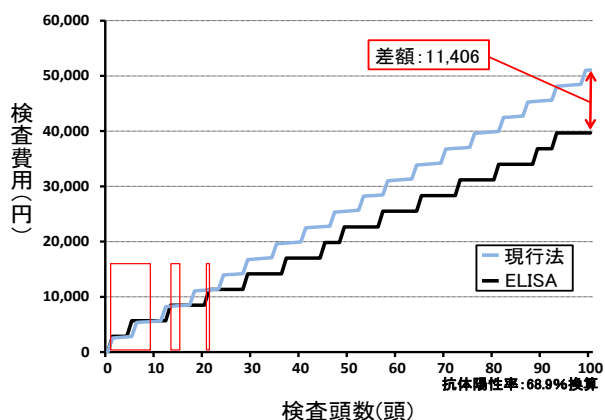


図 6 現行法と ELISA のコスト比較

4. まとめ及び考察

平成 19 年度に農林水産省が、7 県 200 農場で行った全国調査では、乳牛の抗体陽性率は 35%と報告されている⁵⁾。しかし、今回の調査結果から、管内の BLV 抗体陽性率は非常に高いことが推測され、その清浄化には、長期にわたる計画的な対策が必要と考えられた。また、年齢別の抗体陽性率から、4 歳までの感染をいかに抑えるかが課題だと考えられた。8 歳齢で抗体陽性率が上昇したのは、検体数が少ないため、誤差の可能性が考えられた。また、PHA の非特異反応を疑う検体が 2～3 歳齢にかけて多い原因については、産次数が少ないという共通点から、出産によるストレスの関与の可能性も考えられるが、結論には至らなかった。

各種検査法による結果の比較から、現行法では非特異反応は認められなかったものの、感染牛を多く見逃す危険性が示唆された。しかし、AGID は特異性が高く、ウイルス量との相関性があるため⁶⁾個体におけるウイルス量を予測するために活用できると考えられる。

PHA は安価で、ELISA との一致率も高いが、抗体陽性率が急激に上昇する 2～3 歳齢の牛では非特異反応が疑われる結果が表れやすく、PHA だけで判定するには注意が必要と考えられた。

ELISA は、現行法よりコスト及び PCR との一致率で優れ、また、多検体処理が可能であり、かつ客観的に判定することができる。さらに、抗体陽転時期においても PCR と同等の結果が得られる傾向もあり、感染牛・非感染牛の把握に最適であると考えられた。しかし、1 検体で感染の見逃しが疑われたことから、注意が必要である。

今後、さらに比較検討及び追跡調査を行い、それぞれの検査法の長所を活用し、BLV 清浄化への取り組みへとつなげていきたい。

引用文献

- 1) 小沼操：BLV 感染と病態発現．臨床獣医 22 (3):10-14 (2004)．
- 2) 柿沼清市、大塚浩通、大前佳穂里、綾部杏子、柿沼元治、今内覚、及川正明：牛白血病ウイルス感染搾乳牛における末梢血白血球ポピュレーション．日本獣医師会雑誌 64:375-380 (2011)．
- 3) 長田典子、小野恵：東京都内における牛白血病ウイルス浸潤状況と対策．東京都家畜保健衛生業績発表会集録 8-11 (2011)．

- 4) Suh GH, Lee JC, Lee CY, Hur TY, Son DS, Ahn BS, Kim NC, Lee CG: Establishment of a bovine leukemia virus-free dairy herd in Korea. J Vet Sci 3:227-230 (2005).
- 5) 村上賢二、小林創太、筒井俊之：我が国の地方病性牛白血病の発生動向と対策. 日本獣医師会雑誌 62:499-502 (2009).
- 6) 名部美琴、佐織徳彦、木伏雅彦、野間進：牛白血病の診断方法の検討とまん延防止対策. 第45回兵庫県家畜保健衛生業績発表会 10 (2010).