

総 説

臨床現場での牛白血病清浄化対策と問題点

松田敬一^{1,4)}、佐藤真由美^{1,4)}、大橋さやか^{2,4)}、
遠藤祥子^{2,4)}、村松良永^{3,4)}、小井田有美^{3,4)}、鈴木一教^{3,4)}

- 所属機関：1) 宮城県農業共済組合 家畜診療研修所
〒 981-3602 宮城県黒川郡大衡村大衡字平林 39-4
2) 山形県農業共済組合 家畜診療研修所
〒 990-2171 山形市大字七浦字北川原 286-1
3) 岩手県農業共済組合 家畜部家畜課
〒 020-0857 岩手県盛岡市北飯岡 1-10-50
4) NOSAI 東北 家畜臨床研修センター

連絡責任者の氏名：松田敬一

連絡先：981-3602 宮城県黒川郡大衡村大衡字平林 39-4

TEL：022-345-2239 FAX：022-345-0891

E-mail：matsuda@nosaimiyagi.or.jp

【要 約】

地方病性牛白血病 (EBL) は牛白血病ウイルス (BLV) の感染が原因であり、牛白血病のほとんどを占めている。牛白血病の発生は増加の一途をたどっており、早急な清浄化対策の確立が必要である。我々は、過去に EBL の発症歴がある管内の 1 黒毛和種繁殖農場をモデルケースとして、牛白血病清浄化対策を実施した。本対策では、飼養されている親牛全頭で BLV 検査を行った。BLV 検査は、ELISA 法でスクリーニング検査を行い、陽性と判断された検体のみ Real-time PCR 法でウイルス遺伝子検出を行った。検査結果判明後、BLV 陰性牛および陽性牛を分離飼育し、「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」に準拠した衛生対策を行った。対策開始当初に BLV の陽性率が 44.3% あったものが、約 5 年後には 8.6% まで減少した。また、最近の 3 年間では陽転率が 0% で推移しており、本対策が牛白血病清浄化対策に有効であったと考えられる。しかし、第 2 回目検査で 1 頭の陽転が確認された。この牛は、第 1 回目検査時の ELISA 検査 S/P 値が 0.17 と他の陰性牛に比べ高い数値であり、感染初期で抗体が産生される前の牛を検出できなかった可能性がある。そのため、スクリーニング検査の時点から Real-time PCR 法によるウイルス遺伝子の検出を行う必要性がある。また、垂直感染子牛が確認され、この牛の市場出荷を取りやめた。垂直感染子牛は、繁殖農場の経営に大きな負担をかける。牛白血病清浄化対策には、垂直感染子牛を適正価格で買取り、早期肥育を行って EBL 発症前に出荷するなどの出口対策が必要である。

キーワード：牛白血病、牛白血病ウイルス、清浄化対策、地方病性牛白血病

牛白血病は、体表や体腔内のリンパ節の腫脹や末梢血の白血球 (特にリンパ球) の増加を主

徴とする疾病であり、散発性牛白血病と地方病性 (成牛型) 牛白血病に分類される。散発性は子牛型、胸腺型、および皮膚型に分類されるが、その発生原因は不明である。一方、地方病性 (成

受理：2018年10月9日

牛型)牛白血病は牛白血病ウイルス (Bovine leukemia virus : BLV) の感染が原因であり、牛白血病のほとんどを占めている。そのため、本稿では地方病性 (成牛型) 牛白血病を牛白血病として報告する。

BLV は、レトロウイルス科デルタレトロウイルスに属し、ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV) に近縁のウイルスである [15]。BLV は T 細胞に腫瘍化を引き起こす HTLV とは異なり、B 細胞に腫瘍化を引き起こす [16]。BLV に感染すると、ウイルスはリンパ球の染色体にプロウイルスとして組み込まれ [14]、抗体が産生されても体内から排除されず、生涯持続感染して BLV の感染源となる。感染牛の約 70% は無症状感染 (Aleukemia : AL) であるが、約 30% が末梢血液中のリンパ球数が増加する持続性リンパ球増多症 (Persistent lymphocytosis : PL) を呈する。感染牛の数% は数か月から数年の無症状期を経て、B 細胞性の白血病である地方病性牛白血病 (Enzootic bovine leukemia : EBL) を発症する [10]。EBL を発症すると、効果的な治療はなく予後不良となり死亡する [13]。現在のところ、BLV の感染や EBL の発症を予防する効果的なワクチンは無く、EBL の発症を防ぐためには、衛生対策の徹底により BLV の感染を阻止するしかない。

牛白血病の発生は増加の一途をたどっており届出伝染病に指定された平成 10 年では、届出件数が 99 頭であったが、平成 28 年では 3,125 頭となり 18 年で 30 倍以上に急増している。平成 25 年 (2013 年) に報告された、2009 ~ 2011 年に実施した BLV 浸潤状況に関する全国調査では、全国の平均感染率は乳用牛で約 40%、および肉用牛で約 28% であり [11]、昭和 62 年 (1987 年) に報告された同様の全国浸潤調査 (1982 年実施) の結果である乳用牛 4.2%、および肉用牛 6% [6] に比べて明らかに増加している。現在は最終の浸潤調査から 7 年が経過しており、BLV の浸潤状況はさらに増加していることが予想される。平成 25 年に NOSAI 東北で実施した、過去に EBL 発症歴がある一部農家を対象とした BLV 浸潤状況調査では、検査した 267 頭のうち 133 頭が抗体陽性であり、早急の清浄化対策実施の必要性が明らかとなっ

た。そこで今回我々は、過去に EBL の発症歴がある管内の 1 黒毛和種繁殖農場をモデルケースとして、牛白血病清浄化対策を実施したのでその概要を報告する。

材料および方法

対象農場の概要：黒毛和種牛を約 200 頭飼養している繁殖農場であり、対策開始時の飼養頭数は、繁殖用の親牛 117 頭、および子牛 83 頭であった。この農場には、親牛用牛舎が 4 棟、分娩牛舎が 1 棟、および子牛用牛舎が 1 棟の計 6 棟の牛舎が設置されていた。親牛は、分娩牛舎で分娩後 1 週間子牛と同居した後、パドックがある牛舎に移動して発情発見および人工授精を行い、妊娠鑑定後にパドックの無い牛舎に移動して分娩予定 1 週間前まで飼養され、その後分娩牛舎に移動して分娩を迎えるというサイクルで牛舎内を移動していた。子牛の哺乳方法は、出生後 1 週間分娩牛舎で母子同居飼育を行い、親牛の初乳を自然哺乳させる。その後母子分離飼育を行い、個別のハッチにて約 2 週間人工哺乳を行い、人工哺乳に慣れさせたのちに、哺乳ロボットのある区画で群飼を行っていた。

BLV の検査方法：BLV の検査には、親牛全頭と分娩牛舎で飼育されている分娩直後の子牛を供した。頸静脈から血清分離用凝固促進剤入真空採血管 (ベノジェクト II VP-AS109K、テルモ株式会社)、および EDTA 加真空採血管 (ベノジェクト II VP-DK052K、テルモ株式会社) を用いて採血を行った。血清分離用凝固促進剤入真空採血管で採取した血液では、遠心分離にて血清を得た。得られた血清は抗体検査に供した。EDTA 加真空採血管で採取した血液は、ウイルス遺伝子検出に供した。

抗体検査は、マイクロプレートリーダー (iMark マイクロプレートリーダー、BIO-RAD) を用いて ELISA 法 (牛白血病エライザキット、JNC 株式会社) で行い、S/P 値 0.3 以上を陽性とした。

ウイルス遺伝子検出には、自動核酸抽出装置 (Magstration System I2GC PLUS、プレジジョン・システム・サイエンス株式会社) を用いて DNA を抽出した後、リアルタイム PCR 解析システム (CFX Connect™ リアルタイム PCR 解析システム、BIO-RAD) を用いて

Real-time PCR 法 (CycleavePCR[®] 牛白血病ウイルス検出キット、タカラバイオ株式会社) で行い、DNA 10ng 中の BLV 遺伝子 copy 数が 100 未満を低度感染牛、100 以上 500 未満を中度感染牛、500 以上を高度感染牛として分類した。BLV 検査は、予算の都合上、スクリーニング検査として初めに ELISA 法で抗体検査を行い、陽性と判断された検体のみ Real-time PCR 法でウイルス遺伝子検出を行った。

BLV 検査の日程：BLV 検査は平成 25 年 12 月を第 1 回目とし、その後は吸血昆虫発生前の 6 月、および吸血昆虫活動後の 12 月の年 2 回の検査を毎年行い、陽性率 (%) (陽性牛の数 / 親牛の飼育頭数 × 100) および陽転率 (%) (検査時に陽転した牛の数 / 検査前に陰性だった牛の数 × 100) の推移を調査した。なお、導入牛は上記の定期的な採血日程にかかわらず、導入後に検査を行った。

衛生対策：BLV 検査後に陰性牛と陽性牛を分離飼育。吸血昆虫対策として、陽性牛区画に隣接する牛舎の陽性牛側にネットの設置 (図 1)。陽性牛は、BLV 遺伝子 copy 数の多さから淘汰の優先順位を決定し、できるだけ高度感染牛から計画的に淘汰。ワクチン接種等に用いる注射針は 1 頭毎に交換。農場主は人工授精師であったため、人工授精時に用いる直腸検査用プラスチック手袋は 1 頭毎に交換を指示。耳標装着や鼻環装着等の出血を伴う処置時に用いる器具の 1 頭毎に消毒。陽性牛から出生した子牛は、分娩直後に母子分離飼育を実施し、人工初

乳を給与。新たに導入した牛および自家保留する牛は、農場到着後に BLV 検査を行い、検査結果が出るまでの間、ネットで仕切られた区画で飼育し (図 2)、さらに防虫剤であるペルメトリン配合イヤータック (ペルタック、日本全薬工業株式会社) を装着。検査結果の判明後、検査結果に従いそれぞれ陰性牛もしくは陽性牛の区画に導入した。

これらの衛生対策は、平成 27 年に農林水産省から発行された「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」[17] に準拠するものであった。

結果

第 1 回目 (平成 25 年 12 月)：総検査頭数 120 頭のうち、陰性牛 67 頭、および陽性牛 53 頭であり、陽性率は 44.3% であった。陽性牛の内訳は、高度感染牛 9 頭、中度感染牛 11 頭、および低度感染牛 33 頭であった。この検査には、出生直後の子牛 3 頭が含まれ、そのうち中度感染牛から出生した子牛 1 頭が陽性であり、母子感染の存在が明らかとなった。検査時点での陰性牛、および陽性牛の牛舎内分布は図 3 で示した。高度感染牛の周辺に感染牛が多い傾向があった。検査結果から牛を陰性群と陽性群に分けて、分離飼育を行った。陽性牛の頭数が多かったために、陰性牛舎と陽性牛舎に完全に分離することはできず、1 棟の牛舎では、陰性牛と陽性牛を区画分けして飼育することにした (図 4)。陰性区画と陽性区画の間には通路があり、区画間で 4 m の距離があった (図 5)。結



図1 陰性牛舎と陽性牛区の間に設置したネット



図2 導入牛隔離牛房
陽性牛舎の端に配置し陽性牛房との間にネットを設置

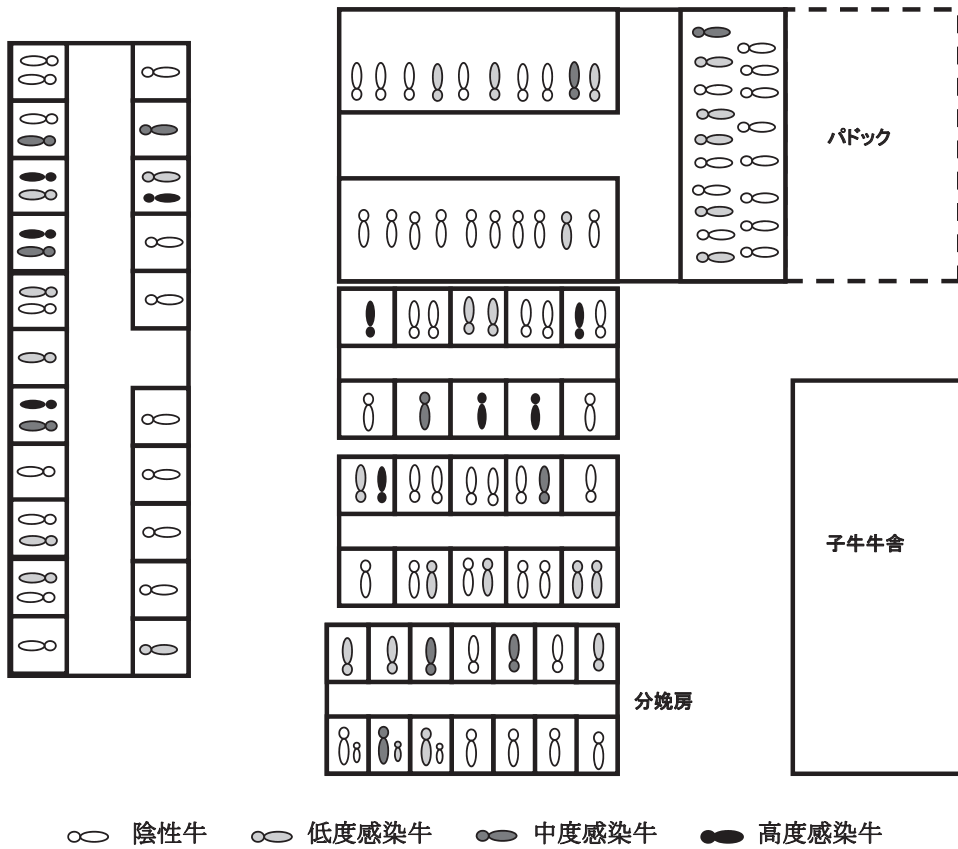


図3 初回検査時点での陰性牛および陽性牛の牛舎内分布

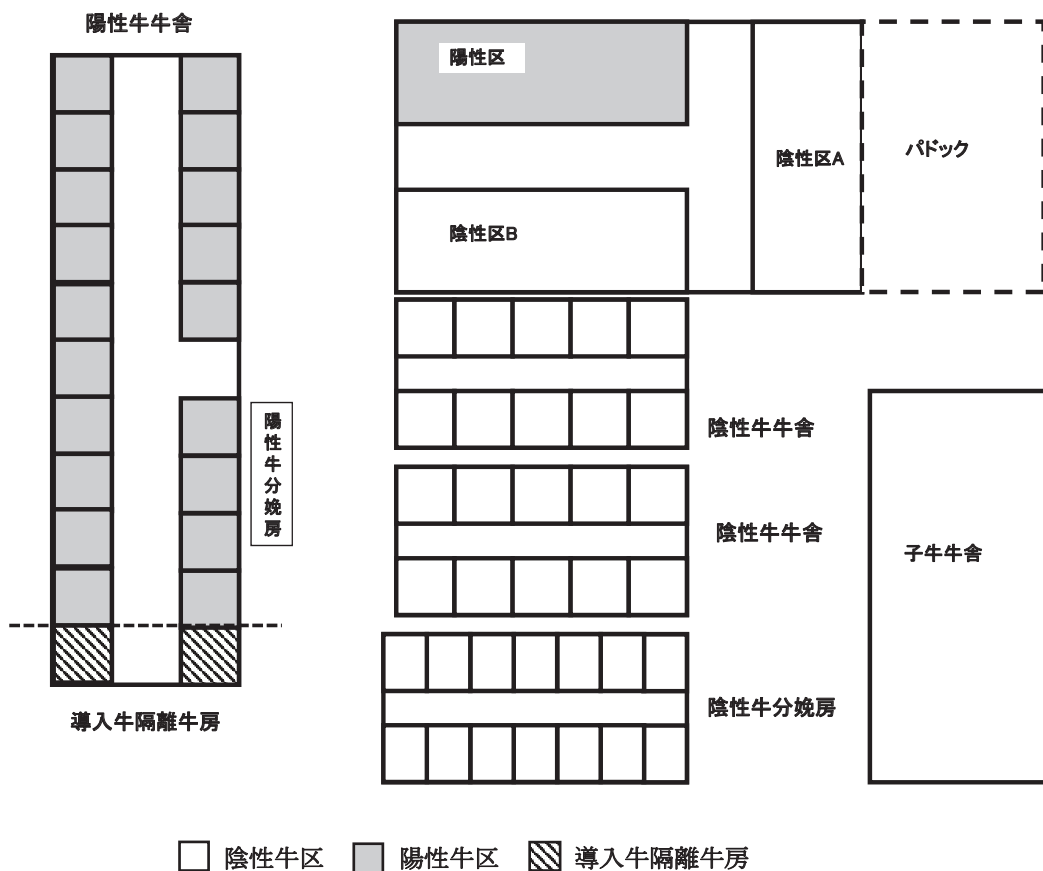


図4 検査後におけるBLV感染の有無による分離飼育



図5 陰性牛区および陽性牛区間の通路 (4m幅)

果をもとに農場主に聞き取り調査を行ったところ、直腸検査用プラスチック手袋の使いまわしの事実が判明し、直ちに1頭1枚にするように指示した。その他、材料および方法で示した衛生対策を開始した。

母子感染の事実が明らかとなり、その子牛が雌だったことから市場出荷せずに保留することとしたが、子牛の検査により陽性牛が判明すると、市場出荷することが出来なくなるという理由で、今後の子牛に対する検査は拒否された。そのため、親牛のBLV清浄化を達成して、出荷する子牛をBLVフリーにすることを最終目標とした。

第2回目(平成26年6月):総検査頭数119頭のうち、陰性牛76頭、および陽性牛43頭であり陽性率は36.7%であった。陰性牛の増加は、5月に外部導入した牛8頭、および自家保留した牛1頭が陰性であったためである。また、陽性牛の減少は、自家淘汰を11頭実施したためである。しかし、陰性牛1頭の陽転が認められ、陽転率は1.5%であった。

平成26年9月に3頭の外部導入があり、陰性牛1頭、および陽性牛2頭であった。

第3回目(平成26年12月):総検査頭数121頭のうち、陰性牛74頭、および陽性牛47頭であり陽性率は38.8%であった。この検査では陰性牛3頭の陽転が認められ、陽転率は3.9%であった。陰性牛の減少は、陰性導入牛1頭による増加と陽転牛3頭による減少の結果である。陽性牛の増加は、陽転牛3頭および陽性導入牛2頭による増加と自家淘汰1頭による減少の結果である。

平成27年3月に7頭の外部導入があり、陰性牛6頭、および陽性牛1頭であった。

第4回目(平成27年6月):総検査頭数120頭のうち、陰性牛82頭、および陽性牛38頭であり陽性率は31.7%であった。この検査では陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、陰性導入牛6頭によるものであった。陽性牛の減少は、陽性導入牛1頭による増加と自家淘汰10頭による減少の結果である。

平成27年10月に4頭の外部導入があり、陰

性牛1頭、および陽性牛3頭であった。

第5回目（平成27年12月）：総検査頭数125頭のうち、陰性牛88頭、および陽性牛37頭であり陽性率は29.6%であった。この検査では陰性牛1頭の陽転が認められ、陽転率は1.1%であった。陰性牛の増加は、検査時に自家保留した牛6頭が陰性であったことによる増加と陽転牛1頭による減少の結果である。陽性牛の減少は、陽転牛1頭による増加と自家淘汰2頭による減少の結果である。

平成28年3月に15頭の外部導入があり、陰性牛12頭、および陽性牛3頭であった。

第6回目（平成28年6月）：総検査頭数135頭のうち、陰性牛100頭、および陽性牛35頭であり陽性率は25.9%であった。この検査では陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、陰性導入牛12頭によるものであった。陽性牛の減少は、自家淘汰2頭によるものであった。この検査の結果より、陽性牛の頭数が減少したため、陽性牛は図3で示した陽性牛舎のみで飼育することが可能となった。

平成28年10月に1頭の外部導入があり、検査の結果陽性牛であった。

第7回目（平成28年12月）：総検査頭数132頭のうち、陰性牛102頭、および陽性牛30頭であり陽性率は22.7%であった。この検査で陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、検査時に自家保留した牛2頭が陰性であったことによるものである。陽性牛の減少は、陽性導入牛1頭による増加と自家淘汰6頭による減少の結果である。

平成29年3月に牛舎を1棟新築し本格的に増頭することになり、12頭の外部導入を行った結果、陰性牛8頭、および陽性牛4頭であった。

第8回目（平成29年6月）：総検査頭数144頭のうち、陰性牛114頭、および陽性牛30頭であり陽性率は20.8%であった。この検査で陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、陰性導入牛8頭と検査時に自家保留した牛4頭が陰性であったことによるものである。陽性牛は、陽性導入牛4頭による増加と自家保留4頭による減少で頭数に変化は無かった。

第9回目（平成29年12月）：総検査頭数

150頭のうち、陰性牛121頭、および陽性牛29頭であり陽性率は19.3%であった。この検査で陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、検査時に外部導入した牛7頭が陰性だったことによるものである。陽性牛の減少は自家淘汰1頭によるものである。

平成30年1月に、残っていた高度感染牛4頭と比較的BLV copy数の多い中度感染牛1頭を岩手大学に搬入し、牛群からBLV copy数の多い牛がいなくなった。

平成30年2月に2頭の外部導入があり、検査の結果2頭とも陰性であった。

第10回目（平成30年6月）：総検査頭数151頭のうち、陰性牛132頭、および陽性牛19頭であり、陽性率は12.6%であった。この検査で陽転牛は無く、陽転率は0%であった。陰性牛の増加は、陰性導入牛2頭と検査時に導入した牛9頭が陰性であったことによるものである。陽性牛の減少は、5頭の岩手大学搬入牛に加え5頭を自家淘汰したことによるものである。

平成30年8月に、自家保留牛6頭があり、検査の結果6頭とも陰性であった。また、その後10月までに陽性牛6頭の自家淘汰を行った。その結果、平成30年10月の時点で総飼養頭数151頭のうち、陰性牛138頭、および陽性牛13頭となり陽性率は8.6%となった（図6）。

考察

EBLの発症歴がある黒毛和種繁殖農場に対して、「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」に準拠した衛生対策を行った結果、対策開始当初にBLVの陽性率が44.3%あったものが、約5年後に牛群として30頭以上の増頭があったにもかかわらずBLVの陽性率は5分の1以下の8.6%まで減少した。また、3年間陽転率が0%で推移しており、本対策が牛白血病清浄化対策に有効であったと考えられる。

BLVの感染様式は、垂直感染 [8] および水平感染が存在する [9]。垂直感染は胎盤感染、産道感染 [8]、および乳汁感染 [5] の3種類の経路が知られている。乳汁感染は、出生直後より母牛の乳汁を飲ませないことにより防ぐことができるが、胎盤感染および産道感染は出生時にすでに感染しているため、人為的に予防す

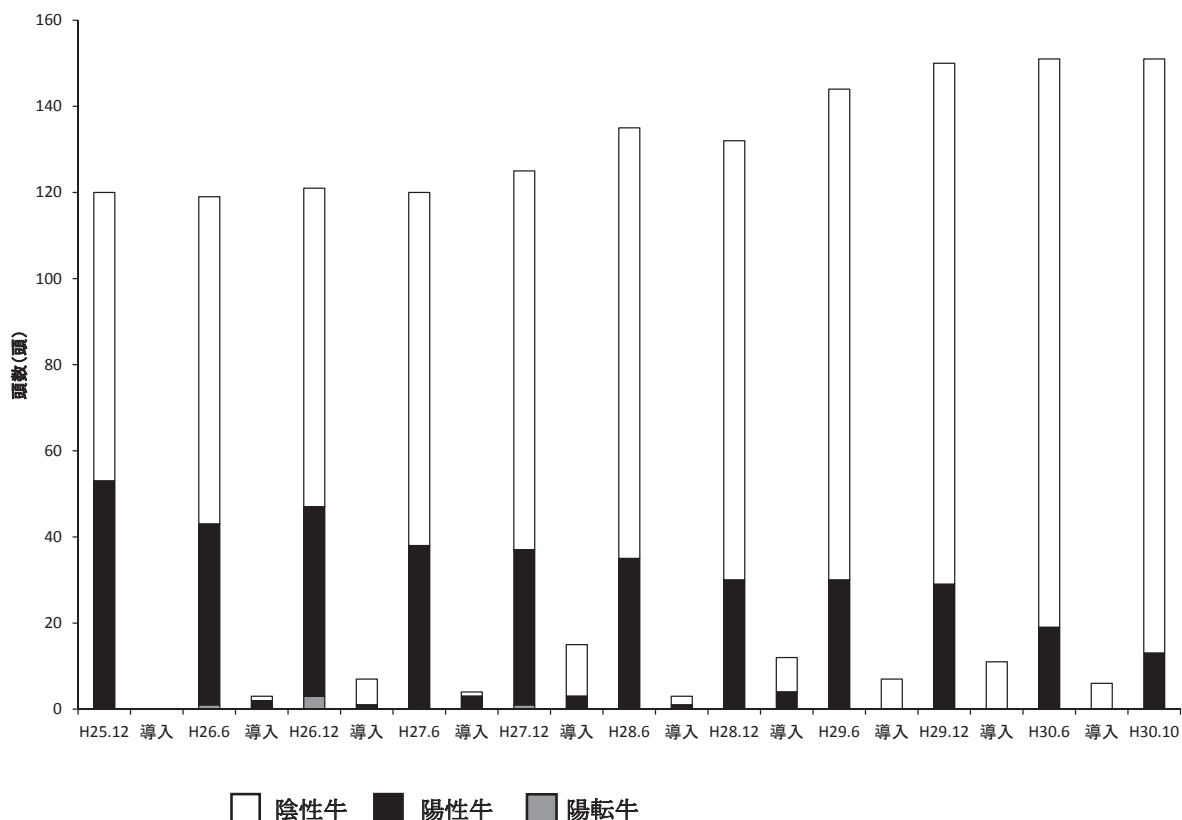


図6 BLV感染状況の推移

ることは難しい。しかし、胎盤感染はAL牛ではほとんど発生せず、PL牛に多く発生すること [1]、およびBLV 遺伝子量が多い母牛は胎盤感染のリスクが高いこと [4] が報告されており、PL牛やBLVの高度感染牛を淘汰することにより、胎盤感染のリスクを減らすことができる。本農場では、対策当初に中度感染牛から垂直感染を疑わせる子牛が出生したが、採血日が出生翌日であったため、胎盤感染、産道感染、および乳汁感染のすべての可能性が否定できない。しかし、陽性牛の乳汁にはBLVに対する移行抗体が含まれており、移行抗体がある時期よりも移行抗体が消失した時期のほうが感染のリスクが高いという報告 [5] から、この子牛は乳汁感染のリスクが低いこと、および産道感染は出血が伴う出産時にリスクが高まると考えられ、本牛の出産は難産では無かったことより産道感染のリスクも低いことから、本牛は胎盤感染であった可能性が高い。このように、必ずしも高度感染牛からのみ胎盤感染がある訳ではないことが牛白血病清浄化対策をより難しくしているものと考えられる。

本対策で行った牛白血病清浄化対策は、主に親牛のBLV感染率を低減することを目的としたため、陽性牛を淘汰すること、および水平感染を防ぎ親の陽転率を0%にすることを目標とした。

水平感染は、人為的（医原性）感染、および吸血昆虫による感染がある [10]。人為的（医原性）感染では、BLV感染牛の血液1 μ l以下でも感染が成立する [2] ことから、注射針の使いまわしや、除角や去勢などの出血が伴う医療行為に使用する器具の使いまわしは非常にリスクが高いと考えられる。また、直腸検査用のプラスチック手袋の使いまわしでBLVが感染することが報告されている [7]。本農場では、農場主への聞き取りおよび感染牛の農場内分布から、農場主が行っていた直腸検査用プラスチック手袋の使いまわしが重要な感染因子であったと考えられ、この使いまわしを止めることが感染伝播の抑制に重要な役割を果たしたものと考えられる。くわえて、獣医師だけでなく割蹄師などの関係者にも出血を伴う行為に使用する器具の消毒を徹底させた。

吸血昆虫による感染には、アブ [12] やサシバエ [3] が関与しており、BLV 感染牛への吸血の際に口器に付着した血液（リンパ球）が乾燥しないうちに次の牛を吸血すると、吸血された牛は BLV に感染する可能性がある。そのため、陰性牛と陽性牛の間にネットを設置すること、および陰性牛と陽性牛の距離を離すことで、吸血昆虫の再吸血までの時間を延長させることにより、吸血昆虫の口器に付着した血液を乾燥（BLV の失活）させ BLV の感染リスクを低減させることが出来るとされている [17]。そのため、本農場では陽性牛と陰性牛を飼育する牛舎を分ける事、およびやむを得ず同一牛舎で飼育する場合は、幅 4m の通路を挟んで陰性牛区画と陽性牛区画を分離することにより再吸血までの時間を延長させ BLV の感染リスクを低減させた。しかし、本農場では対策開始から 2 年間で合計 5 頭の陽転が認められた。第 2 回目検査で陽転した牛は、第 1 回目検査時の ELISA 検査 S/P 値が 0.17 と他の陰性牛に比べ高い数値であった。本対策ではスクリーニング検査として初めに ELISA 検査を行い、ELISA 陽性の牛のみ Real-time PCR を実施していたため、第 1 回目検査時に感染初期で抗体が産生される前の牛を検出できなかった可能性がある。また、陽転牛は図 4 で示した陰性牛区画 A で飼育されており、陽性牛区画と 4m 幅の通路のみで区分されていたため吸血昆虫の関与があった可能性もある。しかし、その後陽転した 4 頭はすべて最初に陽転した牛と同じ陰性牛区画 A で飼育されていたこと、および同じ 4m 幅の通路のみで分けられていた陰性牛区画 B（図 4）では陽転牛が認められなかったことから、陰性牛区画と陽性牛区画間での BLV 感染伝播ではなく、第 1 回目検査時に検出できなかった陽性牛からの同一区画内での水平感染により BLV が伝播したものと考えられる。

本農場では、その後の 3 年間で陽転牛は 1 頭も認められず、当初目標とした陽転率 0% を維持した状態で、計画的な淘汰を進めることにより、牛群の陽性率を 5 分の 1 以下に低減させることに成功した。そのため、本農場で実施した「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」に準拠した衛生対策は BLV 清浄化対策に効果的であると考えられる。

本対策で判明した問題点は、ELISA 検査をスクリーニング検査とすると感染初期の牛を見逃す可能性があること、および垂直感染により出生時すでに BLV に感染している子牛の対処法（出口対策）が無いことが挙げられる。前者を解決するには、スクリーニング検査の時点から Real-time PCR 法を用いてウイルス遺伝子の検出を行える検査体制を全国に拡充する必要がある。後者は、黒毛和種繁殖農場において BLV 清浄化対策を行う上で最も障害になる問題であり、BLV の垂直感染子牛を適正な価格で買い取り、早期肥育を行って EBL が発症する前に出荷する等の出口対策を明確化することにより、農場主が BLV 清浄化対策に取り組むうえでの障害を無くすことが出来ると考えられる。

本対策で実施した様な、「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」に基づいた BLV の感染防止対策を実施して、水平感染を防ぐと共に垂直感染を低減させ、その上で垂直感染で出生した子牛の出口対策を実施すれば、理論上現在 BLV に感染している親牛の生産年齢が過ぎて淘汰されれば BLV が清浄化されることになる。全国で官民一体となった取り組みを実施し、近い将来日本から BLV が清浄化されることを期待する。

本対策は、NOSAI 東北家畜臨床研修センターの「牛白血病清浄化対策事業」の助成をうけて行ったものである。

引用文献

- [1] Agresti, A., Ponti, W., Rocchi, M., Meneveri, R., Marozzi, A., Cavalleri, D., Peri, E., Poli, G. and Ginelli E. 1993. Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. *Am J Vet Res.* 54: 373-378.
- [2] Buxton, BA. and Schultz, RD. 1984. Factors affecting the infectivity of lymphocytes from cattle with bovine leukosis virus. 48 : 365-369.
- [3] Buxton, BA., Hinkle, NC. and Schultz, RD. 1985. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. *Am J Vet Res.* 46 : 123-126.
- [4] 千葉由純, 鈴木千尋, 小笠原房恵, 村井知恵. 2014. 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.
- [5] Dimmock, CK., Chung, YS. and MacKenzie, AR. 1991. Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herds. *Aust Vet J.* 68 : 230-233.
- [6] 伊藤 全. 1987. 牛白血病ウイルス抗体保有状況全国調査. 家畜衛試験研究報告. 90 : 35-60.
- [7] Kohara, J., Konnai, S. and Onuma, M. 2006. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Jpn J Vet Res.* 54 : 25-30.
- [8] Mekata, H., Sekiguchi, S., Konnai, S., Kirino, Y., Horii, Y. and Norimine J. 2015. Horizontal transmission and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in two districts of Miyazaki, Japan. *J Vet Med Sci.* 77: 1115-1120.
- [9] Mekata, H., Sekiguchi, S., Konnai, S., Kirino, Y., Honkawa, K., Nonaka, N., Horii, Y. and Norimine J. 2015. Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet Rec.* 176 : 254.
- [10] 村上賢二, 小林創太, 筒井俊之. 2009. 我が国の地方病性牛白血病の発生動向と対策. 日獣会誌. 62 : 499-502.
- [11] Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K. And Tsutsui, T. 2013. Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009-2011. *J Vet Med Sci.* 75 : 1123-1126.
- [12] Ohshima, K., Okada, K., Numakunai, S., Yoneyama, Y., Sato, S. and Takahashi, K. 1981. Evidence on horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood-sucking tabanid flies. *Nihon Juigaku Zasshi.* 43 : 79-81.
- [13] 大島寛一, 高桑一雄, 水野善夫, 吉川 堯. 1986. 牛白血病診断便覧. 日本獣医師会, 東京.
- [14] Panei, CJ., Takeshima, SN., Omori, T., Nunoya, T., Davis, WC., Ishizaki, H., Matoba, K. and Aida Y. 2013. Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using BLV-CoCoMo-qPCR. *BMC Vet Res.* 9 : 95.
- [15] Sagata, N., Yasunaga, T., Tsuzuku-Kawamura, J., Ohishi, K., Ogawa, Y. and Ikawa, Y. 1985. Complete nucleotide sequence of the genome of bovine leukemia virus: its evolutionary relationship to other retroviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82 : 677-681.
- [16] Schwartz, I., Bensaid, A., Polack, B., Perrin, B., Berthelemy, M. and Levy, D. 1994. In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle. *J Virol.* 68 : 4589-4596.
- [17] 消費・安全局動物衛生課. 2015. 牛白血病に関する衛生対策ガイドライン. 農林水産省, 東京.

Measures and problems to clean bovine leukemia at clinical site

Keiichi Matsuda^{1,4)}, Mayumi Satou^{1,4)}, Sayaka Oohashi^{2,4)},
Syounko Endou^{2,4)}, Yoshiei Muramatsu^{3,4)}, Yumi Koida^{3,4)}, Kazunori Suzuki^{3,4)}

- 1) Miyagi Prefecture Agricultural Mutual Aid Association Livestock Medicine Training Center
39-4 Hirabayashi, Oohira, Kurokawagun, Miyagi, 981-3602, Japan
- 2) Yamagata Prefecture Agricultural Mutual Aid Association Livestock Medicine Training Center
286-1 Kitakawara, Nanaura, Yamagata, Yamagata, 990-2171, Japan
- 3) Iwate Prefecture Agricultural Mutual Aid Association Livestock Department Livestock Section
1-10-50 Kitaioka, Morioka, Iwate, 020-0857, Japan
- 4) NOSAI Tohoku Livestock Medicine Training Center

[Abstract]

Enzootic bovine leukemia (EBL) is caused by infection of bovine leukemia virus (BLV), and it occupies most of bovine leukemia. The incidence of bovine leukemia is steadily increasing and it is necessary to establish urgent cleanup measures. We carried out countermeasures to clean up bovine leukemia using a Japanese black cattle breeding farm having a history of EBL onset in the past as a model case. In this countermeasure, BLV tests were performed on all the cows to be raised. For the BLV test, a screening test was performed by the ELISA method, and only the specimen judged as positive was subjected to viral gene detection by Real-time PCR method. After the test results were determined, BLV-negative cattle and positive cattle were separated and raised, and hygiene measures were conducted in accordance with “Hygiene measures guideline on bovine leukemia”. Although the positive rate of BLV was 44.3% at the beginning of the measures, it decreased to 8.6% after about 5 years. In addition, the positive conversion ratio was 0% for the last three years, and it is considered that this measure was effective for measures to clean bovine leukemia. However, one head positive conversion was confirmed in the second examination. The cow’s ELISA test S / P value was 0.17 in the first examination and it was higher than the other negative cows, so it is possible that the cow before the antibody production earlier in the infection could not be detected. Therefore, there is a need to detect viral genes by real-time PCR from screening tests. Also, a vertical infected calf was confirmed, and we canceled this cow’s market shipment. Vertically infected calves impose a heavy burden on the management of breeding farms. For measures to clean up bovine leukemia, it is necessary to take exit measures such as buying vertical infected calves at an appropriate price, early fattening and slaughtering before EBL onset.

Keywords: Bovine leukemia, Bovine leukemia virus, Cleaning measures, Enzootic bovine leukemia