

# 愛媛県内でと畜される肉用牛の B L V 浸潤状況と牛白血病の 1 例

大洲支部 徳永 貢一郎<sup>1)</sup>、青野 真紀<sup>1)</sup>、篠籪 倫子<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大洲支部、<sup>2)</sup>伊予支部

## 1 はじめに

近年、当所では牛白血病ウイルス ( B L V ) 感染が疑われる腫瘍性の疾病で廃棄となる牛が増加しており、例年 1、2 頭の割合で廃棄となっていた廃用の乳牛ばかりでなく、一般搬入される健康な牛においても廃棄されるようになってきている( 図 1 )。2009 年度に廃棄となった健康畜のうちの 1 頭 ( F1: メス ) は、同年度廃棄となった病畜のうちの 1 頭 ( ホルス: メス ) を出荷した乳用牛農場で生産された牛であり、同農場との関連も疑われた。そこで、肉用牛を対象とした B L V 浸潤状況調査を実施した。また、調査期間中に搬入された繁殖用黒毛和牛において、細菌感染に地方病性牛白血病を合併した事例に遭遇したので、その概要を報告する。

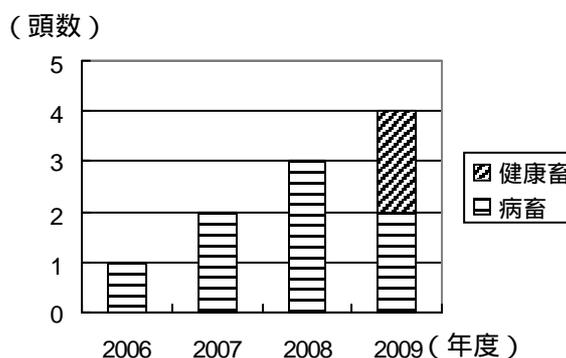


図 1 多発性腫瘍による廃棄頭数の推移

## 2 材料と方法

浸潤状況調査は、平成 22 年 5 月から 6 月に当所に搬入された肉用牛 84 頭から採血を行い、分離血清を用いて抗体検出及び抗体価の測定により行った。抗体検出 ( ELISA ) は牛白血病エライザキット ( チッソ )、抗体価測定 ( PHA ) は牛白血病抗体アッセイキット ( 日生研 ) を用いた。地方病性牛白血病の牛 ( 品種: 黒毛和種、性別: メス、月齢: 54 ヶ月 ) から、血液、主要臓器並びに主要リンパ節を採材し、血液細胞成分、抗体価測定、病理組織検査、免疫組織化学検査、B L V 遺伝子検出、細菌検査を行った。B L V 遺伝子検出は、B L V エンベロープタンパク遺伝子をターゲットとした 1st PCR ( F プライマー-env5032: 5' -TCT GTG CCA AGT CTC CCA GAT A-3'、R プライマー-env5608r: 5' -AAC AAC CTG TGG GAA GGG T-3' )、2nd PCR ( F プライマー-env5099: 5' -CCC ACA AGG GCG GCG CCG GTT T-3'、R プライマー-env5521r: 5' -GCG AGG CCG GGT CCA GAG CTG G-3' ) を用いた nested PCR 及びウシ白血球ウイルス検出キット ( タカラバイオ ) を用いたリアルタイム PCR により行った。

## 3 結果

( 1 ) ELISA による抗体検出では、84 検体中 38 検体から抗体が検出され陽性率 45.2% であった。この 38 検体のうち 36 検体が PHA による抗体価の測定が可能で、抗体価は

32 から 256 倍以上を示した。256 倍以上を示した検体は、36 検体中 17 検体あった（表 1）。また牛の導入元は、18 検体が県内で生産、育成されたもので、このうち 6 検体から BLV 遺伝子が検出され、陽性率 33.3%であった。県外から導入されたものは 66 検体で、30 検体から BLV 遺伝子が検出され、陽性率は 45.4%であった。このうち 6 検体は、県外から直接と畜場に搬入された牛であった。県外から仔牛が導入され、県内育成された牛での陽性率は 36.3%であった（表 2）。

（2）地方病性牛白血病の牛の血液細胞成分は、WBC:70 ( × 10<sup>2</sup>/ μ l)、RBC:311 ( × 10<sup>4</sup>/ μ l) リンパ球数 16 ( × 10<sup>2</sup>/ μ l) であった。正常リンパ球比率は 23.5%であった（表 3）。

PHA による抗体価は、512 倍を示した。と畜解体後の所見は、仙腸骨 Ly、頭部 Ly、縦隔 Ly、肝門 Ly 等の腫脹が顕著で、断面には黒色または白色の壊死が認められ、子宮角の肥厚も著明であった（写真 1）。

病理所見では、各リンパ節や子宮、脾臓等のリンパ腫、またリンパ節においては石灰沈着を伴う壊死も認められ、壊死巣内には菌塊が認められた（写真 2）。細菌検査は、下顎 Ly、仙腸骨 Ly から培養を試みたが、同

表 1 抗体検出及び抗体価測定状況

	ELISA	PHA	抗体価
陰 性	46	48	
陽 性	38	36	32 ~ 256
陽性率	45.2%	42.8%	256 を示した検体 17

表 2 導入別

	県内繁殖育成	県外
陰 性	12	36
陽 性	6	30
陽性率	33.3%	45.4%

6 検体は、県外から直接搬入、と畜。  
県内飼養歴の有る検体 24 (陽性率 36.3%)

表 3 血液細胞成分

	測定値	正常値範囲
WBC	70	40-120 ( × 10 <sup>2</sup> / μ l)
RBC	311	500-1000 ( × 10 <sup>4</sup> / μ l)
正常リンパ球比率	23.5%	45-75
上記以外	76.5%	
リンパ球数	16	25-75 ( × 10 <sup>2</sup> / μ l)
上記以外	54	

と畜前日に数十リッターの輸液が行われている。

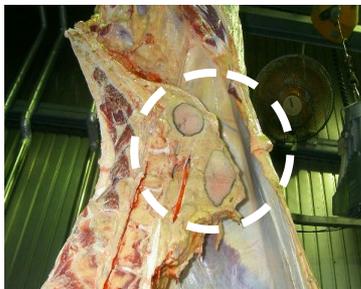


写真 1-1 仙腸骨 Ly

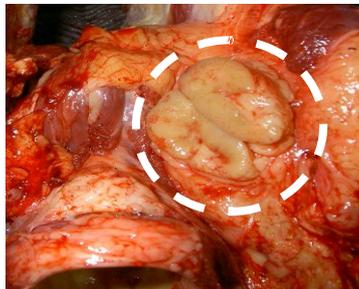


写真 1-2 下顎 Ly



写真 1-3 子宮角

定にはいたらなかった。免疫組織化学的検査では、下顎 Ly、脾臓、子宮角の染色を行った結果、B リンパ球マーカーである CD79a に陽性を示した。

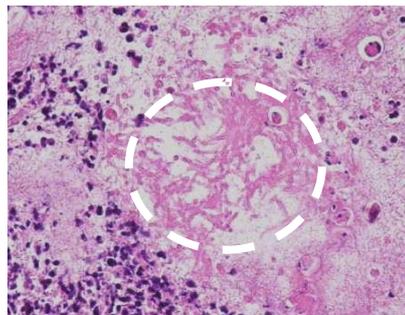
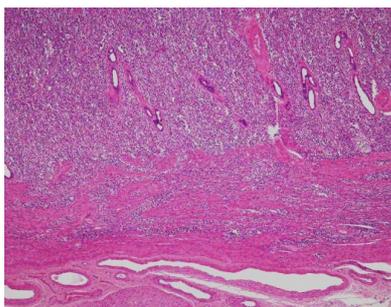
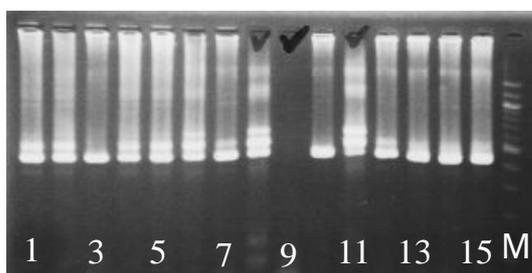


写真 2-1 子宮角：粘膜固有層から筋層にかけてリンパ球様細胞の増殖がみられる。 写真 2-2 仙腸骨 Ly：壊死巣内の菌塊。

nested PCR による遺伝子検出では、多臓器から BLV 特異的遺伝子を検出し（図 4）3 種類の制限酵素を用いた遺伝子型別の結果から 型と推定された。また nested PCR により遺伝子を検出されなかった検体（脾臓）については、リアルタイム PCR により遺伝子を検出した。



【サンプル】

- |         |          |            |
|---------|----------|------------|
| 1 耳下 Ly | 6 仙腸骨 Ly | 11 肝門 Ly   |
| 2 乳房 Ly | 7 腎 Ly   | 12 左子宮角 Ly |
| 3 右心室壁  | 8 下顎 Ly  | 13 腎臓      |
| 4 腸管 Ly | 9 脾臓     | 14 小腸      |
| 5 副腎    | 10 肝臓    | 15 リンパ球    |

図 4 PCR 産物泳動像

4 考察

1980 年、1982 年に国が行った牛白血病の診断及び予防技術の開発を目的とした寒天ゲル内沈降反応による BLV 抗体調査では、愛媛県の肉用牛の抗体保有率は、1980 年は 10%未満、1982 年は 5%未満であったことが示されている。今回のと畜場搬入段階の肉用牛を対象とした抗体調査の結果、検出方法の違いはあるものの、愛媛県内で生産、育成される肉用牛における BLV 感染は、35%前後と顕著に増加したことがわかった。また、県外から直接と畜場に搬入される肉用牛も含めた抗体陽性率は約 45%であり、全国での感染拡大が推察された。

当所における多発性腫瘍による牛の廃棄頭数の増加は、限定的な一部農場（例えば F1 の生産農場である乳用牛農場）での高度な BLV 汚染ではなく、肉用牛における全体的な感染拡大が主な原因と考えられた。

本病の清浄化には、生産段階での計画的な摘発、淘汰が重要であるため、関係機関との連携を強化しながら、と畜段階におけるモニタリングの実施や情報提供等を行っていききたい。