

子牛の牛白血病ウイルス遺伝子検査による 酪農場の地方病性牛白血病対策の検討

小林憲一郎^{1)†}羽生宜弘²⁾神田 章¹⁾

1) 長野県農政部 (〒380-8570 長野市大字南長野字幅下 692-2)

2) 長野県長野家畜保健衛生所 (〒380-0944 長野市安茂里米村 1993)

(2018年4月29日受付・2018年8月10日受理)

要 約

酪農場の地方病性牛白血病 (Enzootic Bovine Leukosis : EBL) 対策のために、乳用雌子牛 (子牛) に牛白血病ウイルス (Bovine Leukemia Virus : BLV) 遺伝子検査を実施し、感染子牛を摘発・淘汰した。BLV 感染牛が分娩した子牛 25 頭について出生月と翌月の 2 回検査し、2 頭 (19~45 日齢) が陽性を示した。6 カ月齢未満の子牛の全頭検査を 3 回実施し、35 頭中 2 頭 (4~5 カ月齢) が陽性を示した。遺伝子検査による感染子牛の摘発・淘汰は、抗体検査に基づく淘汰に比べて経済的損失を軽減した。あわせて水平感染防止対策を実施し、育成牛群の陽転率は、対策前の 64.7% から対策後は 12.5% に低下し ($P < 0.05$)、育成牛群の陽性率が 0% に減少した。子牛の遺伝子検査は、酪農場の EBL 対策に有効である。——キーワード：牛白血病ウイルス、子牛、酪農場、nested-PCR、垂直感染。

-----日獣会誌 71, 702~707 (2018)

地方病性牛白血病 (Enzootic Bovine Leukosis : EBL) は、牛白血病ウイルス (Bovine Leukemia Virus : BLV) を原因とする感染症で、牛に全身性のリンパ性腫瘍を引き起こす [1]。BLV に感染した牛のうち、EBL の発症に至る個体は 5% 未満で、残りの BLV 感染牛は、持続性リンパ球増多症 (PL) もしくは無症状キャリアーとなる [1]。BLV 感染は乳用牛において産乳成績や繁殖成績を低下させないとする報告が多いが [2-5]、一方で、BLV 感染により生産性が低下するとの報告もある [6, 7]。ともあれ、国内の EBL は増加傾向にあることから [8]、酪農場内の BLV 感染率を低下させることが重要である [5]。

Murakami ら [8] は 2009~2011 年の全国調査において乳用牛の 40.9% が BLV に感染しており、感染率は 1 歳未満の 21.0% から 2 歳以上の 42.2% に上昇することを報告している。BLV 感染は胎内感染、産道感染 [9] 及び初乳 [10] 等を介した垂直感染と、注射針や直検手袋の使い回しによる人為的な感染 [11-13] や、アブ [14] 及びサシバエ [15] 等の吸血昆虫による機械的伝播を原因とする水平感染が知られている。2015 年に農林水産省が発表したガイドライン (「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) では、酪農場における垂直感染を予防するため感染牛からの乳用雌子牛 (子牛) 生産の制限や初乳給与の制限、水平感染を予防するため感染牛の分離飼育や搾乳順序の見直し、直検手袋や注射針を 1 頭ごとに交換するといった人為的な感染の予防、垂直感染及び水平感染を予防するため感染牛の淘汰などを求めている。

酪農場の EBL 対策については、フィンランドにおいて BLV 感染牛の摘発・淘汰が有効であることが報告されている [16]。しかし、リトアニアでは摘発・淘汰だけでなく、農場の有病率に応じて感染牛の隔離飼育等の対策を選択し清浄化を達成したことが報告されている [17]。有病率が高い日本においても、感染牛を飼育しつつ徐々に有病率を低下させる対策が推奨されており [18]、Ohshima ら [19] は酪農場において感染した成牛の分離飼育、段階的な淘汰及び感染子牛の淘汰により、5 年間で清浄化を達成した例を報告している。

BLV が浸潤した酪農場のまん延防止のためには、垂直感染を予防するとともに、垂直感染牛を早期に発見し淘汰する必要がある [20]。しかし、一般的に育成段階の感染牛を淘汰することは、農場の経済的損失になるだ

† 連絡責任者：小林憲一郎 (長野県農政部園芸畜産課)

〒380-8570 長野市大字南長野字幅下 692-2

☎ 026-235-7232 FAX 026-235-7481

E-mail : kobayashi-kenichiro-r@pref.nagano.lg.jp

けでなく、その後の農場の繁殖計画に影響を及ぼし、後継牛確保を困難にする。また、垂直感染を予防するために後継牛生産を陰性牛に限定することも、後継牛の確保を困難とする。

従来、BLV検査は酵素免疫測定法（Enzyme-linked immunosorbent assay：ELISA）等による抗体検査が利用されてきたが、移行抗体の影響を考慮し検査は6カ月齢以降の牛を対象としている[21]。Ohshimaら[19]も6カ月齢の子牛に抗体検査を実施し、陽性を示した子牛を淘汰している。一方、遺伝子検査は出生直後から検査可能であり[21]、遺伝子検査による感染子牛の早期摘発・淘汰は、抗体検査による淘汰よりも飼育費を低減することが期待される。筆者らは、1酪農場において遺伝子検査による感染子牛の早期摘発・淘汰を実施し、飼育費の軽減効果を確認するとともに、酪農場のEBL対策に対する有効性を検証した。

材料及び方法

農場概要：対象酪農場はEBL対策開始時の2015年5月時点で、経産牛52頭、離乳後から初産分娩前の育成牛40頭、哺乳子牛13頭を飼育していた。子牛は加温殺菌初乳（60℃ 30分間加熱）を給与後、哺乳牛舎で1頭ずつ人工哺育し、約3カ月齢で離乳した後は育成牛舎で群飼していた。分娩後は、経産牛として搾乳牛舎または乾乳牛舎で飼育していた。搾乳牛舎及び乾乳牛舎は対尻式つなぎ牛舎であった。対策前から既知の抗体陽性牛（陽性牛）を除く6カ月齢以上の全頭について、年1回の抗体検査を実施していた。また、人為的感染の予防を実施していた。分離飼育はしていなかった。当該農場は、繁殖計画に基づき能力の高い牛にホルスタイン種の雌の性選別精液を人工授精して後継牛を確保し、それ以外は肉用交雑種生産に供していた。年1回の抗体検査では育成牛の初回検査が受胎後となる牛が存在し、BLVに感染していても後継牛確保のため淘汰できない例がみられた。

遺伝子検査：2015年5月、2016年4月、同年12月に6カ月齢未満の子牛全頭を対象に、nested polymerase chain reaction（nested-PCR）法による遺伝子検査を実施した（全頭検査）。また、2015年5月以降、感染牛の分娩した子牛に対し出生月と翌月の2回、遺伝子検査を実施した（出生時検査）。EDTA加採血管に血液を採取し、DNA抽出キット（QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN, Germany）を用いて、添付の説明書に従いDNAを抽出した。nested-PCRは、Fechnerら[22]の方法により実施した。反応は市販のPCR試薬（TaKaRa Ex Taq, タカラバイオ㈱, 滋賀）及びサーマルサイクラー（TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice, タカラバイオ㈱, 滋賀）を用いた。1st PCRは94℃で9

分インキュベート後、95℃ 30秒、62℃ 30秒、72℃ 1分を40サイクル行った。2nd PCRも1st PCRと同じ条件で実施した。アガロースゲル電気泳動により444bpの増幅産物が確認された検体を陽性と判定した。陽性の子牛は農場から淘汰した。

淘汰子牛の母牛のPL判定：淘汰した子牛の母牛の血液中のリンパ球数を測定し、ECの鍵[23]によりPLの判定を実施した。リンパ球数の計測は、母牛の血液をEDTA加採血管に採取し、血球計数器（セルタックα, 日本光電工業㈱, 東京）により計測した。

遺伝子検査に基づく淘汰の経済的効果の検証：遺伝子検査により抗体検査に比べて早期に感染子牛を摘発・淘汰することで得られる飼育費の軽減効果を経済的な効果として検証した。淘汰した子牛について、抗体検査が可能となる6カ月齢まで飼育した場合に必要な飼育費と、実際に淘汰した月齢（小数点以下切り捨て）までの飼育に要した飼育費の差を求めた。飼育費は家畜棚卸みなし表（「家畜棚卸みなし表」平成27年度版, JA全農長野中央会, 長野）をもとに、3カ月齢以下を1カ月当たり19,030円、4～6カ月齢を1カ月当たり18,483円として計算した。全頭検査で淘汰した子牛の平均と出生時検査で淘汰した子牛の平均を求め比較した。

抗体検査：2014年6月、2015年5月、12月、2016年4月、12月に6カ月齢以上の既知陽性牛を除く牛を対象に抗体検査を実施した。採取した血液より血清を分離し、ELISAにて抗体の有無を確認した。ELISAは市販のキット（牛白血病エライザキット, JNC㈱, 東京）を用いて添付の説明書に従って実施した。

抗体検査結果より、育成牛と経産牛の抗体陽性率（陽性率）及び陽転率を求めた。陽性率は抗体検査を実施した5回それぞれについて、飼育頭数に占める陽性牛の割合を求めた。

$$\text{陽性率(\%)} = \frac{\text{抗体陽性頭数}}{\text{検査頭数} + \text{既知陽性頭数}} \times 100$$

陽転率は、対策前の2014年6月～2015年5月に育成牛群で飼育されていた陰性牛の陽転率と、対策後の2015年5月～2016年4月に飼育されていた陰性牛の陽転率を求め、両者を比較した。

$$\text{陽転率(\%)} = \frac{\text{新規抗体陽性頭数}}{\text{期首の陰性牛頭数}} \times 100$$

経産牛も同様に、対策前後の陽転率を比較した。対策前後の陽転率の差はFisherの正確検定により検定した。統計処理は統計ソフト（EZR version 1.32, 自治医科大学さいたま医療センター, 埼玉）を使用した[24]。有意水準は0.05とした。

垂直感染防止対策：2015年5月以降、後継牛生産は

表1 農場で実施した吸血昆虫対策 (2016年実施内容)

牛舎等	実施内容	実施場所	実施時期	頻度
育成牛舎	ピリプロキシフェン製剤 ¹⁾ 散布	牛舎周囲	6~11月	2回/週
	ベルメトリン製剤 ²⁾ 散布	陽性牛	6~10月	1回/週
搾乳牛舎	ピリプロキシフェン製剤 ¹⁾ 散布	バーンクリーナー	6~11月	2回/週
乾乳牛舎	殺虫剤入り防虫ネット ³⁾ 設置	トンネル換気入気口	7~11月	常時
堆肥舎	ピリプロキシフェン製剤 ⁴⁾ 散布	堆肥	8月 (堆肥切返し時)	1回/年

- 1) サイクラーテ SG, 住化エンバイロメンタルサイエンス(株), 大阪
- 2) ベルメトリン乳剤「フジタ」, フジタ製薬(株), 東京
- 3) ベルネット 6, 日本全業工業(株), 福島
- 4) サイクラーテ SG5, 住化エンバイロメンタルサイエンス(株), 大阪

非感染牛に限定した。対策前に乳用種を受胎していた感染牛は分娩後に子牛の出生時検査を実施した。子牛への加温殺菌初乳の給与は継続した。

水平感染防止対策: 2015年5月以降、人為的感染防止対策を継続した。また、過去の報告 [19, 25-27] を参考に農場の吸血昆虫対策 (表1) と育成牛舎の分離飼育を実施した。吸血昆虫対策の効果を検証するため、2016年の吸血昆虫対策前の2016年6月と対策後の同年10月に堆肥舎横に粘着シート (パタリンシート, 住化エンバイロメンタルサイエンス(株), 大阪) を設置し、1日間に捕獲した100cm²当たりのサシバエを含むハエの頭数を比較した。育成牛舎の分離飼育は陽性牛専用牛房の設置と、分離飼育を実施している公共牧場への放牧 (夏季のみ) を実施した。搾乳牛舎及び乾乳牛舎では分離飼育は実施しなかった。

成 績

遺伝子検査結果: 2015年5月の全頭検査において13頭中2頭が陽性を示した。1頭は4カ月齢で母牛は4歳、リンパ球数は6,300個/μlで、ECの鍵によるPLの判定は疑陽性であった。もう1頭は5カ月齢で、摘発時に母牛は淘汰されていたためリンパ球数測定はできなかった。2016年4月 (10頭検査) 及び同年12月 (12頭検査) の全頭検査は全頭陰性を示した (表2)。出生時検査は2015年5月~2016年12月に25頭実施し2頭が陽性を示した。1頭は出生月の検査で陽性 (19日齢) で母牛は2歳、リンパ球数は3,200個/μlでECの鍵は陰性だった。もう1頭は出生月の検査 (30日齢) で陰性、翌月

表2 乳用雌子牛 (6カ月齢未満) の BLV 遺伝子検査結果と、抗体検査結果に基づく淘汰と比較した飼育費の軽減効果

検査区分	全頭検査			BLV感染牛産子の出生時検査*
	2015年5月	2016年4月	2016年12月	
検査時期				2015年5月~2016年12月
検査頭数(頭)	13	10	12	25
陽性頭数(頭)	2	0	0	2
陽性率(%)	15.4	0	0	8.0
飼育費の軽減効果** (円/頭)	27,725円			103,024円

* 出生月とその翌月の2回検査実施

** 飼育費の軽減効果: 淘汰した子牛について抗体検査が可能となる6カ月齢まで飼育したと仮定した場合に必要な飼育費と、実際に淘汰した月齢 (小数点以下切り捨て) までの飼育に要した飼育費の差

の検査で陽性 (45日齢) を示し、母牛は12産、リンパ球数16,000個/μlでPL牛だった。飼育費の軽減効果は、全頭検査は平均27,725円/頭 (4カ月齢36,966円, 5カ月齢18,483円), 出生時検査は平均103,024円/頭 (19日齢112,539円, 45日齢93,509円) で、合計261,497円だった。

抗体検査結果: 育成牛の陽性率は、対策前の2014年6月の22.5% (9/40) から2015年5月は45.0% (18/40) に上昇したが、対策後の2015年12月は32.0% (8/25), 2016年4月は16.7% (4/24), 同年12月は0% (0/31) に減少した (図1)。新規感染は、2015年5月の12頭に対し、2015年12月は1頭、2016年4月と12月は0頭だった。陽転率は対策前の64.7% (11/17) に対し、対策後は12.5% (1/8) で有意差を認めた ($P < 0.05$, 図2)。経産牛の陽性率は2014年6月の35.1% (20/57) から、2015年5月は38.5% (20/52), 同年12月は42.6% (23/54), 2016年4月は49.1% (28/57), 同年12月は54.0% (27/50) に上昇した (図1)。新規陽性頭数は2015年5月の3頭に対し、同年12月、2016年4月、同年12月は1頭ずつみられた。陽転率は対策前の11.1% (3/27) に対し、対策後は8.0% (2/25) で減少傾向を示したが、有意差はみられなかった ($P > 0.05$, 図2)。

ハエ捕獲数: 2016年6月の捕獲数は、100cm²当たり18.8頭/日、同年10月の捕獲数は2.8頭/日で、吸血昆虫対策前よりも対策後で減少した。

考 察

今回、遺伝子検査により19日齢~5カ月齢の4頭の感染牛を摘発した。6カ月齢以上を対象とする抗体検査よりも遺伝子検査は早期に感染子牛を発見できること [21] が、今回の調査においても確認された。また、6

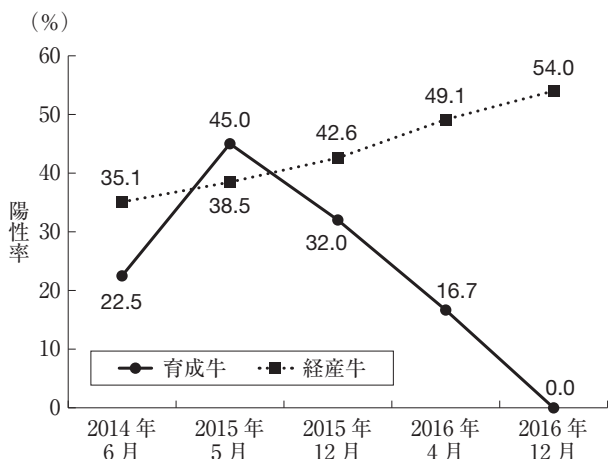


図1 育成牛及び経産牛における牛白血病ウイルス (BLV) 抗体陽性率 (陽性率) の変化
 陽性率 (%) = 抗体陽性頭数 / (検査頭数 + 既知陽性頭数) × 100
 2015年5月より BLV 遺伝子検査による BLV 対策を開始

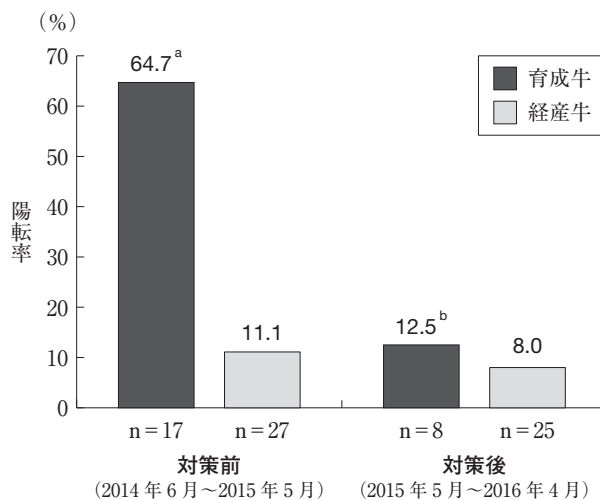


図2 対策前後における BLV 抗体陽性率 (陽性率) の比較
 育成牛: 対象期間中育成牛群で飼育された陰性牛
 経産牛: 対象期間中経産牛群で飼育された陰性牛
 陽性率 (%) = 新規抗体陽性頭数 / 期首の陰性牛頭数 × 100
 a-b 間で有意差あり (P < 0.05)

カ月齢での抗体検査結果に基づく淘汰 [19] に比べ、遺伝子検査結果に基づく早期の淘汰は、農場の経済的損失を軽減することが示された。特に、早期に摘発可能な出生時検査に基づく淘汰は全頭検査による淘汰よりも、早期に摘発可能であり軽減効果が大きかった。

胎内感染は出生直後、産道感染は 31~45 日齢の遺伝子検査により把握できるため [20]、出生時検査で摘発した 2 頭のうち、19 日齢の子牛は胎内感染、45 日齢で陽転した子牛は産道感染と推察した。産道感染の遺伝子検査は 1 カ月齢以降が推奨されており [21]、今回も同様の結果が得られた。2016 年に実施した 2 回の全頭検査で感染子牛がみられなかったことから、出生時検査による感染子牛の摘発・淘汰が、子牛の水平感染予防に有効であると推察した。また、定期的な全頭検査により陰性牛産子の感染状況を把握することができた。以上の結果から、早期摘発・淘汰のための遺伝子検査は陽性牛産子に対する出生時検査と、6 カ月間隔の全頭検査が有効であると考察した。

子牛の遺伝子検査により、BLV 非感染の子牛を確保できることが示された。しかし、PL 牛や血中の BLV 遺伝子量の多い個体は垂直感染のリスクが高い牛 (ハイリスク牛) であり [20, 28]、今回の調査においても感染子牛の母牛 3 頭のうち 2 頭が PL 牛もしくは疑陽性であったことから、ハイリスク牛からの後継牛生産は制限すべきである。

育成牛群での陽転率が減少し、新規感染牛が減少したことは、過去の報告 [19, 25-27] を参考に実施した分離飼育と吸血昆虫対策の効果に加え、出生時検査に基づ

く感染子牛の早期淘汰により育成牛群への感染牛の供給が減少したことが原因であると推察する。子牛~育成期に当たる 0~2 歳は全国的に BLV 抗体陽性率が上昇する時期であるが [8]、遺伝子検査による早期淘汰は子牛~育成期の水平感染リスクを低減する。

対策後育成牛群の陽性率が 0% に低下したのに対し、経産牛群の陽性率が上昇したおもな原因は、対策前に BLV に感染した育成牛が分娩を経て経産牛群に移動した影響によるものである。また、経産牛群の陽転率が対策前後で変化しなかったことは、搾乳牛舎及び乾乳牛舎において分離飼育が実施できなかったことが原因と考えられる。しかし、育成牛群が清浄化されたことから、今後は陽性牛の更新に伴い経産牛群の陽性率が減少し、清浄化を達成することが予想される。以上の結果から、Ohshima ら [19] の示した分離飼育と段階的な淘汰による EBL 対策を実施するに当たり、遺伝子検査による感染子牛の早期摘発・淘汰を実施することは、酪農場の EBL 対策に有効である。

今回の調査を通じて、遺伝子検査は陽性牛の子牛に対する出生時検査と 6 カ月間隔の全頭検査が有効であることを確認した。また、遺伝子検査は抗体検査よりも早期に感染子牛を摘発・淘汰することで、淘汰に伴う経済的損失を軽減することを確認した。子牛の遺伝子検査は酪農場の EBL 対策に有効である。

本研究を実施するに当たりご協力いただいた、サシバエ研究所 橋本洋輔先生、住化エンバイロメンタルサイエンス(株) 石井晋先生に深謝申し上げます。

引用文献

- [1] 小山弘之：牛白血病，動物の感染症，清水悠紀臣ら編，第1版，115-117，近代出版，東京（2002）
- [2] Heald MTS, Waltner-Toews D, Jacobs RM, McNab WB : The prevalence of anti-bovine leukemia virus antibodies in dairy cows and associations with farm management practice, production and culling in Ontario, *Prev Vet Med*, 14, 45-55 (1992)
- [3] Huber NL, DiGiacomo RF, Evermann JF, Studer E : Bovine leukemia virus infection in a large Holstein herd, *Am J Vet Res*, 42, 1477-1481 (1981)
- [4] Jacobs RM, Heeney JL, Godkin MA, Leslie KE, Taylor JA, Davis C, Valli VEO : Production and related variables in bovine leukaemia virus-infected cows, *Vet Res Commun*, 15, 463-474 (1991)
- [5] 小林憲一郎，神田 章，小林千恵：牛白血病ウイルス感染が乳用牛の生産性に与える影響，*日獣会誌*，70，435-437（2017）
- [6] Ott SL, Johnson R, Wells SJ : Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms, *Prev Vet Med*, 61, 249-262 (2003)
- [7] Brenner J, Van-Haam M, Savir D, Trainin Z : The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow, *Vet Immunol Immunop*, 22, 299-305 (1989)
- [8] Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Tsutui T : 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 (2013)
- [9] Van der Maaten MJ, Miller JM, Schmerr MJ : In utero transmission of bovine leukemia virus, *Am J Vet Res*, 42, 1052-1054 (1981)
- [10] Ferrer JF, Kenyon SJ, Gupta P : Milk of dairy cows frequently contains a leukemogenic virus, *Science*, 213, 1014-1016 (1981)
- [11] Hopkins SG, Evermann JF, DiGiacomo RF, Parish SM, Ferrer JF, Smith S, Bangert RL : Experimental transmission of bovine leukosis virus by simulated rectal palpation, *Vet Rec*, 122, 389-391 (1988)
- [12] Hopkins SG, DiGiacomo RF, Evermann JF, Christensen JD, Deitelhoff DP, Mickelsen WD : Rectal palpation and transmission of bovine leukemia virus in dairy cattle, *J Am Vet Med Assoc*, 199, 1035-1038 (1991)
- [13] Hopkins SG, DiGiacomo RF : Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle, *Vet Clin N Am-Food A*, 13, 107-128 (1997)
- [14] Ohshima K, Okada K, Numakunai S, Yoneyama Y, Sato S, Takahashi K : Evidence on horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood-sucking tabanid flies, *Jpn J Vet Sci*, 43, 79-81 (1981)
- [15] Buxton BA, Hinkle NC, Schultz RD : 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 (1985)
- [16] Nuotio L, Rusanen H, Sihvonen L, Neuvonen E : Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland, *Prev Vet Med*, 59, 43-49 (2003)
- [17] Acaite J, Tamosiunas V, Lukauskas K, Milius J, Pieskus J : The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania, *Prev Vet Med*, 82, 83-89 (2007)
- [18] 小西美佐子：地方病性牛白血病（EBL），*日獣会誌*，68，352-354（2015）
- [19] Ohshima K, Okada K, Numakami S, Kayano H, Goto T : An eradication program without economic loss in a herd infected with bovine leukemia virus (BLV), *Jpn J Vet Sci*, 50, 1074-1078 (1988)
- [20] Mekata H, Sekiguchi S, Konnai S, Kirino Y, Honkawa K, Nonaka N, Horii Y, Norimine J : Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus, *Vet Rec*, 176, 254 (2015)
- [21] 目堅博久：牛白血病ウイルス感染症の検査法とその特徴，*産業動物臨床医学雑誌*，6，221-226（2016）
- [22] Fechner H, Blankenstein P, Looman AC, Elwert J, Geue L, Albrecht C, Kurg A, Beier D, Marquardt O, Ebner D : Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle, *Virology*, 237, 261-269 (1997)
- [23] Mekata H, Yamamoto M, Kirino Y, Sekiguchi S, Konnai S, Horii Y, Norimine J : New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle, *J Vet Med Sci*, 80, 316-319 (2018)
- [24] Kanda Y : Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics, *Bone Marrow Transpl*, 48, 452-458 (2013)
- [25] 木島一郎，木山孝茂，松本里志，廣瀬 潤，石井大介，片平清美，山口 浩，主税裕樹，高山耕二，中西良孝：同一牛舎内隔離飼育が黒毛和種育成牛の牛白血病ウイルス伝播に及ぼす影響，*日本暖地畜産学会会報*，57，31-36（2014）
- [26] Ooshiro M, Konnai S, Katagiri Y, Afuso M, Arakai N, Tsuha O, Murata S, Ohashi K : Horizontal transmission of bovine leukemia virus from lymphocytotic cattle, and beneficial effects of insect vector control, *Vet Rec*, 173, 527 (2013)
- [27] Itoh H, Ogasawara N, Ohshima K, Okada K, Numakunai S, Seimiya Y : An attempt to eradicate bovine leukemia virus infection in a public pasture, *Jpn J Vet Sci*, 52, 661-663 (1990)
- [28] Agresti A, Ponti W, Rocchi M, Meneveri R, Marozzi A, Cavalleri D, Peri E, Poli G, Ginelli E : Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth, *Am J Vet Res*, 54, 373-378 (1993)

A Study on Preventing Enzootic Bovine Leukosis Using Nested-PCR
for Identification of Infected Calves on a Dairy Farm

Kenichiro KOBAYASHI^{1)†}, Yoshihiro HANYU²⁾ and Akira KANDA¹⁾

1) *Horticulture and Livestock Division, Department of Agricultural Administration, Nagano Prefectural Government, 692-2 Habashita, Minaminagano, Nagano, 380-8570, Japan*

2) *Nagano Livestock Hygiene Service Center of Nagano Prefecture, 1993 Amori-komemura, Nagano, 380-0944, Japan*

SUMMARY

To prevent bovine leukemia virus (BLV) infection among cattle on a dairy farm, we identified calves that were infected with BLV using nested-PCR from May 2015 to December 2016. Twenty-five calves born from BLV-infected cows were examined during the birth month and the following month. Among these, 2 calves were identified as being infected with BLV. All calves under 6 months of age were examined 3 times for periodic surveillance of BLV infection, and 2 of 35 calves were identified as being infected. The 4 calves infected with BLV, with ages ranging from 19 days to 5 months, were culled from the farm. We implemented precautionary measures to avoid horizontal transmission of BLV in the herd of growing cattle on the dairy farm from May 2015. We evaluated the rate of conversion from seronegative to seropositive in the herd from June 2014 to May 2015 and from May 2015 to April 2016. The rate of conversion decreased from 64.7% to 12.5% ($P < 0.05$). The seroprevalence rate in the herd decreased to 0% in December 2015. Our study results indicate that identification of BLV-infected calves using nested-PCR can be a useful approach to prevent BLV infection on dairy farms and reduce breeding costs for growing calves.

— Key words : Bovine leukemia virus, calf, dairy farm, nested-PCR, vertical transmission.

† *Correspondence to : Kenichiro KOBAYASHI (Horticulture and Livestock Division, Department of Agricultural Administration, Nagano Prefectural Government)*

692-2 Habashita, Minaminagano, Nagano, 380-8570, Japan

TEL 026-235-7232 FAX 026-235-7481 E-mail : kobayashi-kenichiro-r@pref.nagano.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 71, 702 ~ 707 (2018)